

kk
kka
THD 39/11
Joe
P

TESIS

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI JAMBLANG (*Eugenia jambolana*) TERHADAP KADAR GLUKOSA DAN PROFIL LEMAK SERUM TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus novergicus*) YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOSIN



ANITA JOELIANTINA
NIM. 090515542M

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2008**

TESIS

**PEMBERIAN EKSTRAK BIJI JAMBLANG (*Eugenia jambolana*)
TERHADAP KADAR GLUKOSA DAN PROFIL LEMAK SERUM TIKUS
PUTIH JANTAN (*Rattus novergicus*) YANG DIINDUKSI
STREPTOZOTOSIN**

ANITA JOELIANTINA
NIM. 090515542M

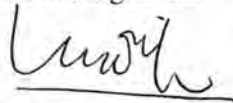
**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2008**

Lembar Pengesahan

TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 31 Januari 2008

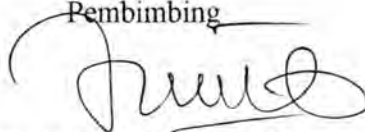
Oleh

Pembimbing Ketua



Prof. Dr. Indri Safitri. dr.,MS.
NIP. 130 933 211

Pembimbing



Juniadi Soetowo, dr.,SpBK
NIP. 130 517 174



Mengetahui
Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar



Prof. Retno Handajani, dr., MS., PhD
NIP. 130 541 984

Tesis ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji

Pada tanggal 15 Pebruari 2008

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof. Dr. Harianto Notopuro, dr., MS.

Anggota : 1. Dr. Hari Basuki Notobroto, dr., M.Kes.

2. Dr. Suhartati, dr.,MS.

3. Edhi Rianto, dr.,MS.

4. Juniadi Soetowo, dr.,SpBK

5. Prof. Dr. Indri Safitri, dr.,MS.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur kehadiran Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

Terima kasih tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Prof. Dr. Indri Safitri, dr., MS., Pembimbing Ketua yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan, saran dan pengetahuan kepada saya sehingga tesis ini dapat terselesaikan.

Terima kasih sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Juniadi Soetowo, dr., SpBK., Pembimbing yang penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran.

Saya ucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada Pemerintah Republik Indonesia cq Menteri Pendidikan dan Kebudayaan melalui Program Bea Siswa Unggulan yang telah memberikan bantuan finansial, sehingga meringankan beban saya dalam menyelesaikan tesis ini.

Dengan selesainya tesis ini, perkenankanlah saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

Rektor Universitas Airlangga Prof. Dr. Fasichul Lisan, Apt., mantan Rektor Universitas Airlangga Prof. Dr. Med. H. Puruhito dr., atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Program Magister pada Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Prof. Dr. H. Muhammad Amin, dr., SpP., dan mantan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Prof. Dr. H.M.S. Wiyadi, dr., Sp.THT (K) atas kesempatan untuk menjadi mahasiswa Program Magister pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Ketua Tim Koordinasi Program Studi Magister Prof. Dr. Harijanto JM, dr., AIF dan Plt. Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Prof. Retno Handajani, dr., MS., PhD., atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Minat Ilmu Biokimia

Direktur Politeknik Kesehatan Surabaya, H. Moch. Muchson, MSc., Ketua Program Studi Keperawatan Soetomo, Joko Suwito SKp., M.Kes, dan mantan Ketua Program Studi Keperawatan Soetomo Dwi Adji Norontoko Skep.,Ns. atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti Program Studi Magister di Universitas Airlangga.

Seluruh staf dosen dan karyawan di bagian Ilmu Biokimia yang telah banyak memberikan pengetahuan dan dukungan kepada saya

Teman-teman di Program Studi Keperawatan Soetomo, temanku drg. Yayuk Susilowati atas kerjasama dan dukungannya selama ini.

Suamiku Imam, anakku Faiq, Rahma dan Akmal atas dukungan dan kesabarannya sehingga pendidikan saya dapat terselesaikan.

Ayah dan ibu yang senantiasa mendukung dan mendoakan saya sehingga saya mendapat kemudahan dalam menyelesaikan pendidikan ini.

RINGKASAN

Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Jamblang (*Eugenia Jambolana*) Terhadap Kadar Glukosa, Dan Profil Lemak Serum Tikus Putih Jantan (*Rattus Novergicus*) Yang Diinduksi Streptozotosin

Diabetes Melitus (DM) tipe 2 adalah suatu gangguan metabolik kronik dari intoleransi glukosa. Gangguan ini dicirikan dengan peningkatan kadar glukosa darah yang disebut sebagai hiperglikemia dan resistensi insulin. Hiperglikemia dan resistensi insulin dapat memicu ketidaknormalan profil lipid. Kemudian dapat berkembang menjadi dislipidemia. Dislipidemia pada DM dicirikan dengan peningkatan trigliserida, kolesterol LDL dan penurunan kolesterol HDL. Hal ini menjadi faktor risiko timbulnya aterosklerosis pada pasien DM.

Pada penelitian ini pengaruh antidiabetik dan antidislipidemik dari ekstrak etanol biji jamblang yang diberikan secara oral dikaji pada tikus yang diinduksi streptozotosin dengan dosis tunggal 50 mg/kg bb secara intraperitoneal.

Kromium, tannin dan flavonoid adalah senyawa kimia yang terdapat dalam biji jamblang. Kemungkinan aktivitas sebagai antidiabetik adalah dengan meningkatkan aktivitas reseptor insulin dan sebagai antidislipidemik berkaitan dengan aktivitas kromium yang dapat meningkatkan hambatan pada enzim HMG KoA reduktase hepatic.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratoris dengan menggunakan rancangan acak lengkap. Sejumlah 24 ekor tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) strain Wistar dibagi menjadi 6 kelompok dan tiap kelompok terdiri dari 4 ekor tikus. Kelompok 1 adalah kelompok normal sedangkan kelompok 2, 3, 4, 5, dan 6 adalah kelompok yang dibuat DM. Kelompok 2 adalah kelompok kontrol DM sebelum perlakuan, kelompok 3 adalah kelompok kontrol DM setelah perlakuan yang diberikan, kelompok 4 adalah kelompok yang diberikan ekstrak biji jamblang 250 mg/kg bb, kelompok 5 adalah kelompok yang diberikan ekstrak biji jamblang 500 mg/kg bb dan kelompok 6 adalah kelompok yang diberikan ekstrak biji jamblang 1000 mg/kg bb. Ekstrak biji jamblang diberikan melalui sonde, dan diberikan selama 15 hari. Penyesuaian dosis dilakukan setiap hari berdasarkan berat badan tikus. Unit analisis adalah darah dari jantung tikus yang diperiksa kadar glukosa, kolesterol total, trigliserida, kolesterol LDL dan kolesterol HDL serum.

Hasil penelitian menunjukkan nilai rerata kadar glukosa serum, kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL dan trigliserida secara berurutan pada kelompok kontrol sebelum perlakuan adalah $138,75 \pm 11,5$ mg/dl; $67,25 \pm 9,67$ mg/dl; $18 \pm 2,94$ mg/dl; $37,5 \pm 4,5$ mg/dl; $90,25 \pm 36,5$ mg/dl, kelompok kontrol diabetes sebelum perlakuan adalah $520 \pm 41,5$ mg/dl; $59 \pm 6,68$ mg/dl; LDL $19 \pm 4,55$ mg/dl; $34,25 \pm 2,99$ mg/dl; $93 \pm 19,68$ mg/dl, kelompok kontrol DM setelah perlakuan $351,75 \pm 62,43$ mg/dl; $59,5 \pm 5,26$ mg/dl; $12 \pm 2,71$ mg/dl; $37,5 \pm 5,45$ mg/dl; $60,75 \pm 22,78$ mg/dl, kelompok ekstrak 250 mg/kg bb $300,75 \pm 50,14$ mg/dl; $57 \pm 6,68$ mg/dl; $11,5 \pm 1,29$ mg/dl; $40,75 \pm 6,34$ mg/dl; $58,5 \pm 14,66$ mg/dl, kelompok ekstrak 500 mg/kg bb $189,5 \pm 73,24$ mg/dl; $60,75 \pm 4,25$ mg/dl; $11,5 \pm 1,29$ mg/dl; $43,75 \pm 2,99$ mg/dl; $58,5 \pm 23,7$ mg/dl, dan kelompok ekstrak

1000 mg/kg bb $159 \pm 68,04$ mg/dl, $54 \pm 2,45$ mg/dl; $11,5 \pm 1,92$ mg/dl; $44,25 \pm 3,59$ mg/dl; $49,25 \pm 19,57$ mg/dl.

Hasil uji beda dengan menggunakan Anova pada variabel dependen pada kelompok kontrol diabetik setelah perlakuan, kelompok ekstrak 250 mg/kg bb, kelompok ekstrak 500 mg/kg bb dan kelompok ekstrak 1000 mg/kg bb menunjukkan kadar glukosa $p = 0,003$, kolesterol total $p = 0,271$, kolesterol LDL $p = 0,271$, kolesterol HDL $p = 0,221$, dan trigliserida $p = 0,860$, sehingga kadar glukosa berbeda secara bermakna sedangkan kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL, dan trigliserida tidak berbeda secara bermakna pada kelompok kontrol diabetik, ekstrak 250 mg/kg bb, ekstrak 500 mg/kg bb, ekstrak 1000 mg/kg bb. Hasil dari uji beda menggunakan LSD

Dengan demikian ekstrak biji jambang 500 mg/kg bb dan 1000 mg/kg bb dapat menurunkan kadar glukosa serum dan tidak berpengaruh terhadap profil lemak serum pada tikus putih jantan yang diinduksi streptozotisin dosis tunggal 50 mg/kg bb.

SUMMARY

**THE EFFECT OF EUGENIA JAMBOLANA SEED EXTRACT
ADMINISTRATION ON SERUM GLUCOSE AND PROFILE LIPID
LEVEL IN STREPTOZOTOCIN INDUCED DIABETES
RATS (*Rattus Novergicus*)**

Diabetes Mellitus type 2 is a chronic metabolic disorder of glucose intolerance. It is characterized by high blood glucose level and insulin resistance. The hyperglycemia and insulin resistance lead to lipid profile abnormalities. More over development of dyslipidemia. A characterized of diabetic dyslipidemia consist of increase of triglycerdes and LDL cholesterol and reduced of HDL cholesterol. They are the risk factors of atherosclerosis in diabetic patien.

In the present study the antidiabetic and antidislipidemia effect of oral administration of ethanolic extract of Eugenia Jambolana seed was assessed in streptozotocin induced diabetic rats. Diabetes was induced by intraperitoneal injection of streptozotosin (50 mg/ kg bw rats).

Chromium, tannin, and flavonoid were the chemicals constituents detected in Eugenia jambolana seed. They possibly acts as an antidiabetic by enhancing insulin receptor activity and as an antidislipidemia is related to the fact that chromium promote the inhibition of the HMG Co-A reductase hepatic enzyme.

This was a laboratory experimental study using complete randomized design. A number of 24 male Wistar strain white rats were devided into six group, each comprising four rats. Group one served as pretest normal control. Group two, three, four, five and six was streptozotocin induced diabetic rats group. Group two served as pretest diabetic control group. Group three was posttest diabetic control receiving aquous solutions 2ml/200 mg bw rats/day as placebo. Group four was given Eugenia jambolana seed extract with dose 250 mg/kg bw rats/day in aquous solution 2 ml/200 g bw rats. Group five was given Eugenia jambolana seed extract with dose 500 mg/kg bw rats/day in aquous solution 2 ml/200 g bw rats. Group six was given Eugenia jambolana seed extract with dose 1000 mg/kg bw rats/day in aquous solution 2 ml/200 g bw rats. The treatment was given for 15 day and the dose adjustmen every day based on the rat's body weight. The analysis unit was blood from rats heart examined for serum glucose, total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol, and tryglyserides level.

Results showed that average value of the variables of serum glucose, total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol and trygliseride level at pretest control group was respectively $138 \pm 11,5$ mg/dl; $67,25 \pm 9,67$ mg/dl; $18 \pm 2,94$ mg/dl; $37,5 \pm 4,5$ mg/dl; $90,25 \pm 36,5$ mg/dl, pretest diabetic control group $520 \pm 41,5$ mg/dl; $59 \pm 6,68$ mg/dl; $19 \pm 4,55$ mg/dl; $34, 25 \pm 2,99$ mg/dl; $93 \pm 19,68$ mg/dl, posttest diabetic control group $351,75 \pm 62,43$ mg/dl; $59,5 \pm 5,26$ mg/dl $12 \pm 2,71$ mg/dl; $37,5 \pm 5,45$ mg/dl; $60,75 \pm 22,78$ mg/dl, Eugenia jambolana seed extract 250 mg/kg bw group $300,75 \pm 50,14$ mg/dl; $57 \pm 6,68$ mg/dl; $11,5 \pm 1,29$ mg/dl; $40,75 \pm 6,34$ mg/dl; $58,5 \pm 14,66$ mg/dl, Eugenia Jambolana seed extract 500 mg/kg bw group $189,5 \pm 73,24$ mg/dl; $60,75 \pm 4,27$ mg/dl; $11,5 \pm 1,29$ mg/dl; $43,75 \pm 2,99$ mg/dl; $58,5 \pm 23,7$ mg/dl, and Eugenia

jambolana seed extract 1000 mg/kg bw group $159 \pm 68,04$ mg/dl; $54 \pm 2,45$ mg/dl; $11,5 \pm 1,92$ mg/dl; $44,25 \pm 3,59$ mg/dl; $49,25 \pm 19,57$ mg/dl.

Results of discriminant test using Anova on the dependent variable in posttest diabetic control group, Eugenia Jambolana seed extract 250 mg/kg bw group, Eugenia jambolana seed extract 500 mg/kg bw group, and Eugenia jambolana seed extract 1000 mg/kg bw group for serum glucose were $p = 0,003$, serum total cholesterol $p = 0,271$, LDL cholesterol $p = 0,975$, HDL cholesterol $0,221$, and trygliserides $p = 0,860$, so that serum glucose level was significantly different, while total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol and trygliserides were not significantly different in posttest diabetic control group, Eugenia jambolana seed extract 250 mg/kg bw group, Eugenia Jambolana seed extract 500 mg/kg bw group, Eugenia jambolana seed extract 1000 mg/kg bw group. Result of discriminant test using LSD in dependent variable for serum glucose in posttest diabetic control group was significantly different from that Eugenia jambolana seed extract 500 mg/kg bw ($p = 0,004$) and Eugenia jambolana seed extract 1000 mg/kg bw group ($p = 0,001$), but posttest diabetic control group not significantly different from that Eugenia jambolana sed extract 250 mg/kg bw group ($p = 0,282$). While the Eugenia jambolana seed extract 500 mg/kg bw group was not significantly different from Eugenia jambolana seed extract 1000 mg/kg bw group ($p = 0,513$).

In conclusion, Eugenia jambolana seed extract 500 mg/kg bw and 1000 mg/kg bw can be used to reduced serum glucose level, and Eugenia jambolana seed extract 250 mg/kg bw has not effect on the reduce of serum glucose level. So The Eugenia jambolana seed extract 250 mg/kg bw, 500 mg/kg bw and 1000 mg/kg bw has not effect on the reduced serum total cholesterol, LDL cholesterol, trygliserides level and the increase HDL cholesterol.

ABSTRAK

Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Jamblang (*Eugenia Jambolana*) Terhadap Kadar Glukosa, Dan Profil Lemak Serum Tikus Putih Jantan (*Rattus Novergicus*) Yang Diinduksi Streptozotosin

Biji jamblang mengandung kromium, tanin dan senyawa flavonoid yang diduga dapat menurunkan kadar glukosa, kolesterol total, kolesterol LDL, trigliserida dan meningkatkan kolesterol HDL pada tikus putih yang diinduksi streptozotosin.

Penelitian ini adalah penelitian eksperimen laboratoris yang menggunakan rancangan acak lengkap. Unit eksperimen dan replikasi adalah 24 ekor tikus putih (*Rattus novergicus*) strain Wistar berat 100 - 200 gram dibagi menjadi 6 kelompok, masing-masing terdiri dari 4 tikus. Kelompok 1 adalah kelompok normal sedangkan kelompok 2, 3, 4, 5, 6 adalah kelompok yang diinjeksi streptozotosin dosis tunggal 50 mg/kg BB secara intraperitoneal. Kelompok 2 adalah kelompok kontrol sebelum perlakuan, kelompok 3 adalah kelompok kontrol setelah perlakuan, kelompok 4 diberikan ekstrak 250 mg/kg BB, kelompok 5 diberikan ekstrak 500 mg/kg BB dan kelompok 6 diberikan ekstrak 1000 mg/kg BB.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar glukosa serum tikus yang diinjeksi streptozotosin berbeda secara bermakna $p = 0,000$ dengan kelompok yang tidak diinjeksi. Sedangkan untuk profil lemak serum tidak berbeda secara bermakna antara kelompok yang diinjeksi dengan kelompok yang tidak diinjeksi ($p > 0,05$). Setelah diberikan ekstrak biji jamblang pada kelompok yang diinjeksi streptozotosin diperoleh hasil bahwa kadar glukosa serum pada kelompok ekstrak dosis 500 mg/kg BB dan 1000 mg/kg BB berbeda bermakna dengan kelompok kontrol ($p = 0,004$ dan $p = 0,001$), sedangkan kadar kolesterol total, kolesterol LDL, HDL, dan trigliserida serum pada kelompok ekstrak dosis 250 mg/kg BB, 500 mg/kg BB dan 1000 mg/kg tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol ($p = 0,271$, $p = 0,975$, $p = 0,221$, dan $p = 0,860$).

Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak biji jamblang dengan dosis 500 mg/kg BB dan 1000 mg/kg BB dapat menurunkan kadar glukosa serum dan tidak berpengaruh terhadap profil lemak serum pada tikus putih jantan yang diinduksi streptozotosin dosis tunggal 50 mg/kg bb.

Kata kunci: *Biji jamblang, streptozotosin, diabetes mellitus, kadar glukosa, kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL, trigliserida*

ABSTRACT

**THE EFFECT OF EUGENIA JAMBOLANA SEED EXTRACT
ADMINISTRATION ON SERUM GLUCOSE AND PROFILE LIPID
LEVEL IN STREPTOZOTOCIN INDUCED DIABETES
RATS (*Rattus Novergicus*)**

Eugenia Jambolana seeds extract contain of chromium, tannin and flavonoid that possibly may reduced the level of blood glucose, total cholesterol, trygliseride, cholesterol LDL and increase cholesterol HDL in streptozotosin-induced diabetic rats.

This study was a laboratory experimental study using complete randomized design. A number of 24 male albino Wistar rats weighing 100 – 200 mg were divided into 6 groups (N = 4). Group 1 served as control group and the other groups were given streptozotosin to induced diabetic. Streptozotosin diabetic rats were given aqua 2ml/200g for control diabetic and the others were given Eugenia jambolana seed extract for 15 day.

Result showed that blood glucose in posttest control group was significantly different from that in Eugenia jambolana seed extract 500 mg/kg ($p = 0.004$) and 1000 mg/kg ($p = 0,001$), and Eugenia jambolana seed extract 500 mg/kg was not significantly different from 1000 mg/kg ($p = 0.513$). The variable of trygliserida in posttest control was not significantly different from that E. jambolana seeds extract 250, 500, and 1000 mg/kg ($p = 0.806$). The variable of total cholesterol in posttest control was not significantly different from E. jambolana seeds extract 250 mg/kg, 500 mg/kg, and 100 mg/kg ($p = 0.271$). The variable of LDL cholesterol in posttest control was not significantly different from E. jambolana seeds extract 250, 500, 1000 mg/kg ($p = 0.975$). The variable of HDL cholesterol in posttest control was not significantly different from E. jambolana seeds extract 250 mg/kg ($p = 0.531$), 500 mg/kg ($p = 0.753$), 1000 mg/kg ($p = 0.221$).

In conclusion, E. jambolana seeds extract can be used to reduce blood glucose level (500, 1000 mg./kg) and has no effect on reduced trygliseride, total cholesterol, LDL Cholesterol, and increase HDL cholesterol.

Keywords: *E. jambolana, streptozotosin, diabetes mellitus, blood glucose, total cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol, trygliseride*



DAFTAR ISI

Sampul Depan	i
Sampul Dalam	ii
Persetujuan	iii
Penetapan Panitia	iv
Ucapan Terima kasih	v
Ringkasan	vi
Summary	viii
Abstrak	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Jamblang	7
2.2 Klasifikasi Jamblang	7
2.3 Morfologi Jamblang	8
2.4 Kandungan Jamblang	10
2.4.1 Kromium	11
2.4.2 Tanin	13
2.4.3 Asam galat dan asam elagat	13
2.4.4 Flavonoid dan kuersetin	14
2.4.5 Hubungan biji jamblang dengan DM dan profil lipid	15
2.5 Streptozotosin	16
2.6 Diabetes Melitus	20
2.6.1 Definisi Diabetes Melitus	20
2.6.2 Etiologi dan patofisiologi	20
2.6.3 Komplikasi Diabetes Melitus	23
2.6.4 Mekanisme sekresi insulin oleh sel β pankreas	24
2.7 Transport Glukosa	25
2.8 Metabolisme Lipid	26
2.8.1 Sintesis asam lemak	26
2.8.2 Sintesis triasilgliserol	27
2.8.3 Pengangkutan lipid antar jaringan	28

2.8.4 Metabolisme kolesterol	32
2.9 Profil Lipid pada Diabetes Melitus	34
2.9.1 Peningkatan trigliserida dan kolesterol VLDL.....	35
2.9.2 Peningkatan kolesterol LDL	36
2.9.3 Penurunan kolesterol HDL	37
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL	
3.1 Dasar Teori	38
3.1 Kerangka Konseptual	40
3.2 Hipotesis	41
BAB 4 METODE PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian	42
4.2 Unit Eksperimen dan Replikasi	43
4.3 Variabel Penelitian	43
4.3.1 Klasifikasi variabel	43
4.3.2 Definisi operasional	44
4.4 Bahan Penelitian	45
4.5 Instrumen Penelitian	46
4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian	47
4.7 Prosedur Penelitian	47
4.8 Pengambilan Data	49
4.9 Teknik Analisis Data	50
4.10 Prosedur Kerja Penelitian	51
BAB 5 HASIL PENELITIAN	
5.1 Data Hasil Penelitian Setelah Diinjeksi Streptozotosin	52
5.1.1 Data berat badan, kadar glukosa dan profil lipid	52
5.1.2 Uji normalitas kelompok normal dan DM	53
5.1.3 Uji homogenitas kelompok normal dan DM	53
5.1.4 Hasil uji beda berat badan, kadar glukosa dan profil lipid kelompok normal dan DM	54
5.2 Data Hasil Penelitian Setelah Pemberian Ekstrak Biji Jamblang ...	55
5.2.1 Data berat badan, kadar glukosa, dan profil lipid kelompok kontrol dan perlakuan	55
5.2.2 Uji normalitas kelompok kontrol dan perlakuan	56
5.2.3 Uji homogenitas kelompok kontrol dan perlakuan	57
5.2.4 Hasil analisis varians	57
5.2.5 Hasil uji LSD	58
BAB 6 PEMBAHASAN	
6.1 Hasil Penelitian Setelah Diinjeksi Streptozotosin.....	61
6.1.1 Uji normalitas kelompok normal dan DM.....	61
6.1.2 Pengaruh penyuntikan streptozotosin.....	62

6.2 Hasil Penelitian Setelah Pemberian Ekstrak Biji Jamblang	64
6.2.1 Uji normalitas dan homogenitas	64
6.2.2 Pengaruh pemberian ekstrak biji jamblang terhadap kadar glukosa serum	65
6.2.3 Pengaruh pemberian ekstrak biji jamblang terhadap kadar kolesterol total	68
6.2.4 Pengaruh pemberian ekstrak biji jamblang terhadap kadar trigliserida	69
6.2.5 Pengaruh pemberian ekstrak biji jamblang terhadap kadar kolesterol LDL	71
6.2.6 Pengaruh pemberian ekstrak biji jamblang terhadap kadar kolesterol HDL	72
 BAB 7 PENUTUP	
7.1 Kesimpulan	75
7.2 Saran	76
 DAFTAR PUSTAKA	77
LAMPIRAN	81

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Kandungan buah jamblang	10
Tabel 2.2	Kandungan biji jamblang	11
Tabel 2.3	Variasi zat penginduksi Diabetes Melitus	17
Tabel 5.1	Nilai rerata dan simpang baku berat badan awal, berat badan akhir dan variabel tergantung pada dua kelompok	52
Tabel 5.2	Hasil uji normalitas data	53
Tabel 5.3	Hasil uji beda variabel tergantung pada kelompok normal dan kelompok diabetes melitus	54
Tabel 5.4	Nilai rerata dan simpang baku berat badan awal, berat badan Akhir dan variabel tergantung	55
Tabel 5.5	Hasil uji normalitas data	56
Tabel 5.6	Tabel hasil uji homogenitas data	56
Tabel 5.7	Hasil uji beda dengan anova variabel tergantung pada Kelompok positif dan ekstrak biji jamblang	57
Tabel 5.8	Hasil uji beda dengan LSD pada variabel kadar glukosa	58
Tabel 5.9	Nilai rerata dan perbedaan antar kelompok	58

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Daun, buah dan biji jamblang	10
Gambar 2.2	Mekanisme usulan tentang partisipasi kromium dalam aksi insulin pada sel sensiti insulin	12
Gambar 2.3	Mekanisme pembersihan (scavenging) radikal bebas oleh asam galat dan reaksi terminasi radikal asam galat	14
Gambar 2.4	Mekanisme pembersihan radikal bebas oleh flavonoid.....	15
Gambar 2.5	Mekanisme streptozotosin (STZ) menyebabkan toksik sel β pankreas. MIT (mitokondria); XOD (xantin oksidase)	19
Gambar 2.6	Patogenesis DM tipe 2	22
Gambar 2.7	Glycation, advanced glycation	24
Gambar 2.8	Sekresi insulin	25
Gambar 2.9	Struktur lipoprotein plasma	28
Gambar 2.10	Komposisi lipoprotein di dalam plasma manusia	29
Gambar 2.11	Metabolisme HDL pada pengangkutan balik kolesterol.....	34
Gambar 3.1	Bagan kerangka konseptual penelitian	40
Gambar 4.1	Prosedur kerja penelitian	51

DAFTAR LAMPIRAN

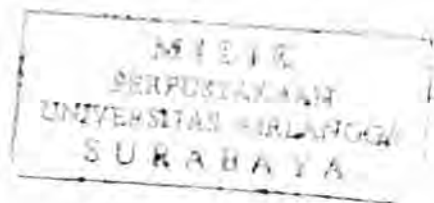
	Halaman
Lampiran 1 : Ijin Kelaikan Etik	81
Lampiran 2 : Tabulasi Data	82
Lampiran 3 : Data awal sebelum perlakuan	84
Lampiran 4 : Data setelah perlakuan	89
Lampiran 5 : Metode pemeriksaan	96

DAFTAR SINGKATAN

ABC-1	= ATP-binding cassette transporter 1
AGEs	= Advanced glycation end product
ATP	= Adenosin Tri Phosphat
DM	= Diabetes Melitus
DNA	= Deoxyribo nucleic acid
DRI	= Dietary reference ingestion
eNOS	= endothelial Nitrogen oxyde synthase
Fl-O	= Radikal flavonoid
GLUT	= Glucose transporter
GTF	= Glucose tolerance factor
HDL	= High density lipoprotein
HFD	= High fat / fructose diet
HMG-KoA	= Hidroksi metil glutaril-KoA
IDL	= Intermediate density lipoprotein
IDDM	= Insulin dependent diabetes mellitus
INF	= Interferon
IR	= Insulin receptor
ip	= intraperitoneal
iv	= intravena
LCAT	= Lecithin cholesterol acyl transferase
LSD	= Least significant different
LDL	= Low density lipoprotein
NIDDM	= Non insulin dependent diabetes mellitus
NO	= Nitrit oxide
R	= Radikal bebas
VLDL	= Very low density lipoprotein
STZ	= Streptozotosin
SRB-1	= Scavenger reseptor B1

BAB 1

PENDAHULUAN



1.1 Latar Belakang

Diabetes Melitus (DM) adalah suatu gangguan metabolik yang bercirikan peningkatan kadar glukosa serum atau hiperglikemia dan adanya glukosa dalam urin atau glukosuria (Jakus, 2000; WHO 2006). Penyakit ini juga merupakan salah satu kelainan degeneratif akibat fungsi atau struktur jaringan atau organ tubuh yang secara progresif menurun dari waktu ke waktu karena usia (Subroto, 2006). Dalam jangka panjang penyakit ini dapat menyebabkan gangguan lebih lanjut pada berbagai jaringan terutama mata, ginjal, saraf, jantung dan pembuluh darah (Mayfield, 1998; Payne, 2002). Penyakit ini tidak dapat disembuhkan tetapi dapat dihambat dan dikendalikan (Subroto, 2003).

Diperkirakan sekitar 171 juta penduduk dunia menderita Diabetes Melitus, dan diperkirakan jumlah ini akan meningkat menjadi 366 juta pada tahun 2030 (WHO, 2006). Sekitar 70-80 persen penderita Diabetes Melitus, meninggal karena penyakit vaskuler sebagai salah satu komplikasi diabetes (Chattopadhyay, 2005; WHO, 2006). Menurut data yang dipublikasikan dalam jurnal *Diabetes Care* 2004, penderita Diabetes Melitus di Indonesia pada tahun 2000 mencapai 8,4 juta orang dan menduduki peringkat ke empat setelah India, Cina dan Amerika Serikat. Jumlah tersebut diperkirakan akan meningkat lebih dari dua kalinya pada tahun 2030, yaitu menjadi 21,3 juta orang (Wild *et al.*, 2004).

Diabetes Melitus yang disebabkan karena sel β pankreas yang rusak sehingga pankreas tidak dapat mensekresi insulin disebut sebagai Diabetes

Melitus tipe 1 atau *Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (IDDM), sedangkan yang disebabkan karena resistensi insulin disebut Diabetes Melitus tipe 2 atau *Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (NIDDM) (Colman *et al.*, 1999; Isselbacher *et al.*, 2000). Insulin merupakan suatu hormon yang berfungsi untuk mengatur kadar glukosa darah. Insulin menurunkan kadar glukosa darah dengan meningkatkan ambilan glukosa oleh otot dan jaringan adiposa, meningkatkan oksidasi glukosa dan sintesis glikogen. Insulin juga menghambat lipolisis jaringan adiposa, glikogenolisis dan glukoneogenesis di hati, dan meningkatkan lipogenesis (Jakus, 2000; So, *et al.*, 2000)

Gangguan aktifitas insulin akan mengganggu berbagai proses metabolisme yang dapat menyebabkan hiperglikemia yaitu peningkatan kadar glukosa darah. Hiperglikemia kronis pada penderita Diabetes Melitus, dapat menyebabkan timbulnya komplikasi, 19 % mikrovaskuler (retinopati, nefropati, neuropati), 10 % makrovaskuler (iskemia jantung, stroke, aterosklerosis) dan 24 % keduanya (Payne, 2002; WHO, 2006).

Pada Diabetes Melitus kadar asam lemak bebas dalam darah meningkat karena pelepasan yang berlebihan dari jaringan adiposa (lipolisis) dan penurunan ambilan oleh otot skeletal. Asam lemak bebas ini akan lebih banyak yang masuk ke hati. Respon hati terhadap peningkatan aliran asam lemak bebas adalah dengan meningkatkan sintesis trigliserida, *very low density lipoprotein* (VLDL) dan sintesis kolesterol ester (Murray *et al.*, 2003). Selanjutnya VLDL akan diekskresikan ke dalam sirkulasi. Peningkatan VLDL dan penurunan aktifitas lipoprotein lipase menyebabkan hipertrigliseridemia. Hipertrigliseridemia akan meningkatkan kadar kolesterol yang terdapat pada VLDL, IDL atau LDL yang

dapat berkaitan dengan penyakit aterosklerosis. Tingginya kadar trigliserida menurunkan HDL yang meningkatkan transport kolesterol dari HDL ke VLDL. Hipertrigliseridemia dan rendahnya HDL berkaitan dengan disfungsi endotelial (Creager *et al.*, 2003).

Pengelolaan Diabetes Melitus hingga saat ini masih belum memuaskan, banyak obat paten yang digunakan untuk penderita Diabetes Melitus yang harganya relatif mahal, sehingga biaya pengobatanpun semakin mahal. Besarnya biaya pengobatan tersebut tidak terjangkau, terutama bagi penderita di negara berkembang seperti Indonesia. Hal ini memerlukan pengelolaan yang lebih murah dan efektif dengan mengoptimalkan penggunaan herbal sebagai suplemen nutrisi (Subroto, 2006). Indonesia merupakan negara yang sangat kaya akan sumber alam hayati karena topografi Indonesia dengan iklim tropisnya menunjang tumbuhnya beraneka ragam tumbuhan. Hal ini merupakan potensi yang harus dimanfaatkan dan dilestarikan keberadaannya dengan tujuan untuk kesejahteraan manusia.

Salah satu tanaman yang diduga mengandung bahan aktif yang berkhasiat sebagai antidiabetes adalah jamblang (*Eugenia jambolana*). Bagian yang dapat dimanfaatkan sebagai antidiabetes dan antihiperlipidemia adalah buah, biji, daun dan kulit batang. Di Indonesia, jamblang atau juwet secara tradisional telah digunakan dalam pengobatan Diabetes Melitus, tetapi biji jamblang belum banyak digunakan, sehingga perlu dilakukan penelitian secara ilmiah. Selain itu senyawa aktif yang terkandung dalam biji jamblang berbeda dengan buah jamblang. Senyawa aktif tersebut adalah flavonoid, glikosida, asam galat, asam elagat, tannin, kuersetin, triterpenoid, dan mineral terutama kromium (Sagrawat, 2000; Pepato, 2001; Subroto, 2006).

Tanin merangsang fosforilasi pada jalur transport glukosa yang diperantarai insulin (*insulin-mediated glucosa transport*) dengan berikatan secara langsung pada *insulin receptor* (IR), selanjutnya menyebabkan translokasi GLUT 4 (Liu, 2004). Kromium berperan dalam meningkatkan aktifitas reseptor insulin dan meningkatkan ambilan glukosa ke dalam sel, juga dapat menurunkan kadar kolesterol bebas, trigliserida, dan meningkatkan kolesterol HDL (Dey, 2002). Flavonoid, kuersetin, saponin yang terkandung dalam biji jambang, mempunyai efek sebagai antioksidan, dan sebagai antihiperlipidemia (Sagrawat, 2000; Pepato, 2001). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian pada biji jambang sebagai antidiabetik dan antihiperlipiemik

Untuk membuktikan pengaruh antidiabetik dan antihiperlipidemik biji jambang, akan dilakukan penelitian eksperimental dengan menggunakan tikus putih jantan yang dibuat menderita Diabetes Melitus dengan memberikan injeksi streptozotosin dosis tunggal 50 mg/kg BB. Dengan dosis ini, menurut Cattopadhyay *et al.*, (2005) telah terjadi peningkatan profil lemak serum pada tikus putih jantan pada hari ke tujuh dan setelah diberikan ekstrak daun laportea terjadi penurunan profil lemak secara signifikan. Penggunaan tikus putih jantan ini tidak dipengaruhi oleh siklus estrus, lebih mudah melakukan kontrol terhadap makanan, aktifitas, lingkungan dan sebagainya. Selain itu tikus mudah dikendalikan, dan dapat diambil darahnya dalam jumlah yang relatif banyak. Organ tubuh tikus mempunyai fisiologi yang diperkirakan sesuai atau identik dengan manusia (Kusumawati, 2004).

1.2 Rumusan Masalah:

- 1.2.1 Apakah ekstrak biji jamblang dapat menurunkan kadar glukosa serum tikus putih jantan yang diinduksi streptozotosin?
- 1.2.2 Apakah ekstrak biji jamblang dapat menurunkan kadar kolesterol total serum tikus putih jantan yang diinduksi streptozotosin?
- 1.2.3 Apakah ekstrak biji jamblang dapat menurunkan kadar kolesterol LDL serum tikus putih jantan yang diinduksi streptozotosin?
- 1.2.4 Apakah ekstrak biji jamblang dapat meningkatkan kadar kolesterol HDL serum tikus putih jantan yang diinduksi streptozotosin?
- 1.2.5 Apakah ekstrak biji jamblang dapat menurunkan kadar trigliserida serum tikus putih jantan yang diinduksi streptozotosin?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk membuktikan bahwa ekstrak biji jamblang berpengaruh terhadap kadar glukosa dan profil lemak serum tikus putih jantan yang diinduksi streptozotosin

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mempelajari apakah pemberian ekstrak biji jamblang dapat menurunkan kadar glukosa serum tikus putih jantan yang diinduksi streptozotosin
2. Mempelajari apakah pemberian ekstrak biji jamblang dapat menurunkan kadar kolesterol total serum tikus putih jantan yang diinduksi streptozotosin

3. Mempelajari apakah pemberian ekstrak biji jamblang dapat menurunkan kadar kolesterol LDL serum tikus putih jantan yang diinduksi streptozotosin
4. Mempelajari apakah pemberian ekstrak biji jamblang dapat meningkatkan kadar kolesterol HDL serum tikus putih jantan yang diinduksi streptozotosin
5. Mempelajari apakah pemberian ekstrak biji jamblang dapat menurunkan kadar trigliserida serum tikus putih jantan yang diinduksi streptozotosin

1.4 Manfaat

- 1.4.1 Memberikan informasi untuk penelitian lebih lanjut akan adanya potensi ekstrak biji jamblang sebagai antidiabetik dan antihiperlipidemik
- 1.4.2 Memberikan informasi bahwa biji jamblang dapat digunakan sebagai obat alternatif untuk menurunkan kadar glukosa serum, kadar kolesterol total, trigliserida, kolesterol LDL serta meningkatkan kadar kolesterol HDL.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Jamblang (*Eugenia jambolana*)

Pohon jamblang tergolong tumbuhan buah-buahan yang berasal dari Asia dan Australia tropik, dengan tinggi yang mencapai 10-20 meter dan memiliki batang tebal, bengkok dan bercabang banyak. Sering ditemui tumbuh liar di hutan dan ladang sampai kawasan setinggi 1.500 meter di atas permukaan laut. Beberapa diantaranya ada yang dibudidayakan secara khusus sebagai tanaman buah. Tanaman ini berkembang baik di wilayah dengan curah hujan di atas 1000 mm per tahun. Jamblang dapat bertahan terhadap genangan yang berkepanjangan dan tahan terhadap kekeringan (Morton, 1987; IPTEKnet, 2005; Bingeli, 2006).

Jamblang dapat tumbuh subur pada berbagai tanah, di lahan basah dan rendah, juga pada lahan yang lebih tinggi dengan sistem pengaliran yang baik (tanah liat, campuran tanah liat dan kapur, tanah berpasir, tanah berkapur). Pohon jamblang memerlukan sedikit perawatan dan perhatian sampai menghasilkan buah. Tidak ada penyakit dan hama yang berbahaya menyerang pohon jamblang. Di Jawa, pohon jamblang berbunga pada bulan Juli dan Agustus, berbuah pada bulan September dan Oktober (Morton, 1987; IPTEKnet, 2005).

2.2 Klasifikasi Jamblang

Pohon jamblang termasuk dalam famili *myrtaceae*, selengkapnya terdapat pada taksonomi di bawah ini (Brands, 2006):

Kingdom : *Plantae (plants)*

Subkingdom : *Viridaplantae (green plants)*

- Phylum* : *Tracheophyta*
Subphylum : *Spermatophyta (seed plants)*
Infraphylum : *Angiospermae*
Class : *Magnoliopsida (dicotyledonae)*
Subclass : *Rosidae*
Order : *Myrtales*
Suborder : *Myrtineae*
Family : *Myrtaceae*
Genus : *Eugenia L*
Spesies : *jambolana*

Botanical name: Eugenia jambolana

Sinonim dari *eugenia jambolana* adalah *syzygium cumini*, *syzygium jambolana*, *syzygium jambolanum*, *syzygium caryophyllifolium*, *eugenia cumini*, *eugenia caryophyllifolia*, *calypranthes caryophyllifolia* (Morton, 1987; Binggeli, 2006). Nama lain: *black plum*, *jambolan plum*, *java plum* (English), *Djoweet*, *doowet*, *jamblang* (Java), *duhat* (Philippines), *jamblang*, *jambul*, *jambbol*, *salam* (India, Malaya), *jambol* (Brazil) (Morton, 1987). Di Indonesia jamblang juga mempunyai banyak nama seperti: manting, juwet, duwet (Jawa), dhuwak (Madura), juwet, jujutan (Bali), dan jambula (Maluku) (IPTEKnet, 2005).

2.3 Morfologi Jamblang

Pohon jamblang berperawakan kokoh, selalu hijau, tinggi 10-20 meter dengan diameter batang 40-90 cm. Percabangannya rendah, kulit kayu yang berada dipangkal batang kasar dan berwarna coklat tua, sedangkan makin keatas makin licin dan

berwarna kelabu muda. Berakar tunggang, bercabang berwarna coklat muda (Morton, 1987; IPTEKnet, 2005; Bingeli, 2006).

Buahnya buah buni, lonjong sampai bulat telur, seringkali membengkok, bermahkota cuping kelopak, panjangnya sekitar 2-3 cm. Saat masih muda berwarna hijau, tetapi ketika masak berubah menjadi merah keunguan. Buahnya bergerombol mencapai 40 butir, daging buahnya berwarna kuning sampai keunguan, mengandung banyak sari buah, hampir tak berbau. Rasanya agak masam dan sepat sehingga jika akan dimakan perlu dibubuhi garam dulu. Biji jambang berbentuk lonjong, keras warnanya putih sampai coklat (Morton, 1987; IPTEKnet, 2005; Bingeli, 2006).

Bunganya tergolong bunga majemuk, berbentuk malai, tumbuh di ketiak daun dan ujung batang. Kelopak bunga berbentuk lonceng, berwarna hijau muda, mahkota berbentuk bulat telur, benang sari dan putik berwarna putih dan berbau harum.

Daun tunggal, bulat telur, tebal, tangkai memanjang, ujung runcing, tepi rata, pangkal tumpul dan lebar berbentuk persegi. Pertulangan daun menyirip, panjang 7-16 cm, lebar 5-9 cm, warnanya hijau dan permukaannya mengkilap (Morton, 1987; IPTEKnet, 2005; Bingeli, 2006). Morfologi dari jambang dapat dilihat pada gambar 2.1.



Gambar 2.1: Daun, buah dan biji jambang (Morton, 1987)

2.4 Kandungan Jamblang

Buah jambang mengandung banyak senyawa aktif dan mineral, seperti yang terlihat pada tabel 2.1

Tabel 2.1: Kandungan buah jambang

Kandungan	
Nilai nutrisi (per 100 g)	0,7-0,129 g protein , 14 g karbohidrat, 0,15-0,3 g lipid, 0,3-0,9 serat
Mineral (per 100 g)	Sodium 6,2 mg, Potasium 55 mg, Kalsium 8,3-15 mg, Fosfor 15-16,2 mg, Besi 1,2-1,62 mg, Magnesium 35 mg, Mangan 0,57 mg, Belerang 13 mg, Tembaga 0,23 mg, Klor 8 mg, Seng 0,29 mg
Senyawa aktif	atsiri, fenol (<i>methylxanthoxylin</i>), alkaloid (<i>jambosine</i>), asam organik, triterpenoid, resin yang berwarna merah tua mengandung asam elagat, dan tanin
Vitamin (per 100 g)	Vitamin A 80 I.U, Thiamin (B1) 0,120 mg, Ribovlavin (B2) 0,009-0,01 mg, Niasin (B3) 0,072 mg, Asam askorbat (C) 30,00 mg, Kolin 7 mg, Asam folat (B9) 3 mcg.

Sumber: Noomrio, 1996; Sagrawat *et al.*,2000; Shridar *et al.*,2005; Safdar *et al.*, 2006.

Biji jambang mengandung sejumlah senyawa aktif yang diduga mempunyai pengaruh terhadap penurunan kadar glukosa serum dan penurunan kadar kolesterol total, kolesterol LDL, trigliserida dan meningkatkan kolesterol HDL.

Tabel 2.2: Kandungan biji jambang

Kandungan	
Nilai nutrisi	Protein 8,20 %, Karbohidrat 55,77%, Lipid 1,26%, Abu 22,32 %, Serat 15,14 %
Mineral	Seng (0,0006%), Kromium (0,003%), Natrium (1,82%), Kalium (16,7%), Kalsium (0,54%), Magnesium 10,2%), Mangan (0,067%), Besi (0,258%).
Senyawa aktif	Resin (2,4%), triterpenoid, tanin (6-19%), flavonoid (kuersetin), asam galat, asam elagat (senyawa fenol), asam oksalat, alkaloid (<i>jambosine</i>), korilagin, asam oksalat, albumin, klorofil, β -sitosterol, asam oleanolat, jambolin atau antimelin

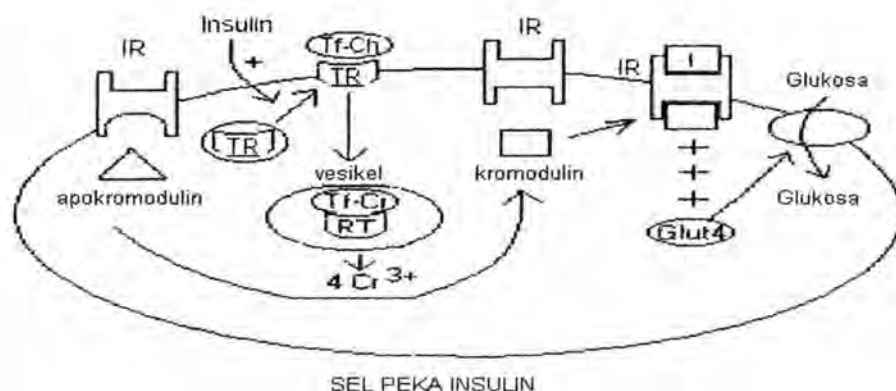
Sumber: Noomrio, 1996; Sagrawat *et al.*,2000; Shridar *et al.*,2005; Indrayan *et al.*, 2005; Safdar *et al.*, 2006.

2.4.1 Kromium

Kromium adalah mineral mikronutrien yang diperlukan oleh tubuh. Di dalam tubuh jumlahnya sangat kecil. Kromium merupakan suatu elemen penting, terutama dalam bentuk trivalen, yang diperlukan antara lain untuk mempertahankan kenormalan glukosa dan mencegah intoleransi glukosa (Linder, 1992; Yeh *et al.*, 2003). Peran kromium berkaitan dengan faktor toleransi glukosa (GTF) dan meningkatkan sejumlah reseptor insulin. Kromium memfasilitasi pengikatan insulin dengan reseptor insulin dan ambilan glukosa ke dalam sel. Suplemen kromium menunjukkan mampu menurunkan kadar glukosa puasa, meningkatkan toleransi glukosa, meningkatkan kepekaan reseptor insulin (Linder, 1992; Dey, 2002; Yeh, 2003).

Menurut Yamamoto *et al.*, bahwa aksi insulin mungkin bergantung pada kandungan kromium yang terdapat dalam kromodulin intraseluler. Kromodulin meningkatkan sensitivitas insulin dengan merangsang aktifitas tirosin kinase pada reseptor insulin dalam membran plasma. Letak aktivasi tampaknya terletak dekat atau pada *active site* enzim tirosin kinase, yang menyebabkan hambatan pada enzim fosfotirosinfosfatase yang menginaktivasi tirosin kinase. Model yang telah diusulkan tersebut menjelaskan aksi kromodulin sebagai bagian dari sistem amplifikasi sinyal insulin. Kromodulin disimpan dalam bentuk apo dalam sitosol dan inti sel sensitif insulin. Peningkatan insulin dalam sirkulasi menyebabkan dua situasi yang seiring yaitu peningkatan mobilisasi kromium ke dalam sel target, yang diperantarai oleh transferin dan mobilisasi reseptor transferin dari vesikel intraseluler menuju membran. Kemudian gabungan kromium transferin berikatan dengan reseptor transferin dan membentuk kompleks yang diinternalisasi melalui endositosis. Di

dalam ruang intravesikuler, dengan pH asam terjadi pencernaan dan pelepasan kromium ke sitosol. Empat atom Cr^{3+} berikatan dengan apokromodulin dan membuatnya aktif dalam bentuk kromodulin, selanjutnya terikat pada *active site* reseptor insulin menyebabkan teraktifasi dan mengamplifikasi sinyal (Gomes *et al.*, 2005).



IR = Insulin receptor (Reseptor insulin)
 TR = Transferrin receptor (Reseptor transferin)
 Tf-Ch = Transferrin bound to chromium (Ikatan transferin dan kromium)
 I = Insulin

Gambar 2.2 : Mekanisme usulan tentang partisipasi kromium dalam aksi insulin pada sel sensitif insulin (Gomes *et al.*, 2005).

Kromium juga menurunkan kolesterol total dan trigliserida, serta meningkatkan kolesterol HDL. Mekanisme kromium sebagai anti hiperkolesterolemia belum jelas, diduga aksinya berkaitan dengan kemampuannya dalam menghambat hidrosimetilglutaril-KoA reduktase (HMG-KoA reduktase) (Linder 1992). HMG-KoA reduktase akan mereduksi hidrosimetilglutaril KoA menjadi mevalonat. Reaksi yang dikatalisis oleh HMG-KoA reduktase ini adalah penentu kecepatan pembentukan kolesterol (Marks *et al.*, 2000).

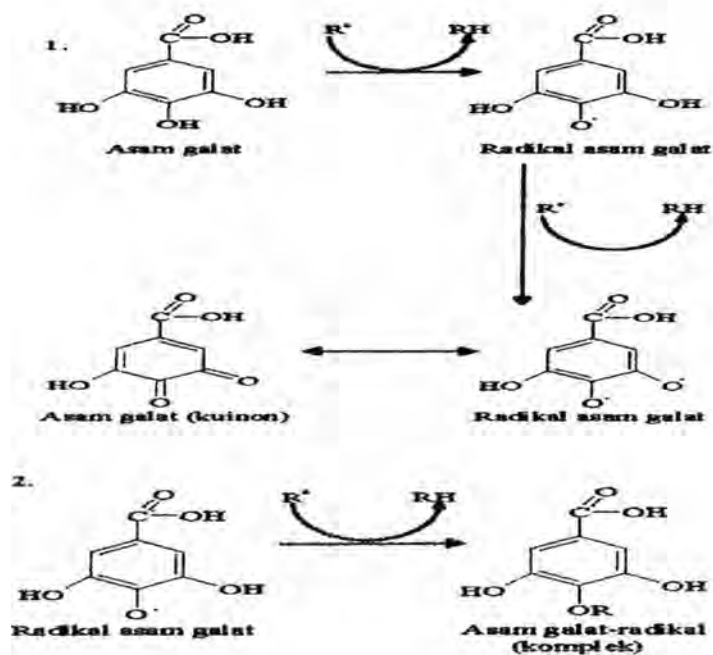
2.4.2 Tanin

Tanin adalah senyawa polifenol yang ditemukan dalam makanan seperti leguminosa, sayuran dan buah-buahan. Berdasarkan struktur kimia tanin dibedakan menjadi dua yaitu *Hydrolizable tannin* dan *condensed tannin*. Biji jambang mengandung *hydrolizable tannin*, terdiri dari galotanin yang juga disebut sebagai asam tanat (*tannic acid*) yang dapat terhidrolisis menjadi asam galat, dan elagitanin yang secara spontan mengalami laktonisasi membentuk asam elagat (Hagerman, 2002; Liu, 2004).

Asam tanat secara nyata telah menunjukkan efek antilipogenesis pada hewan coba dan antidiabetik pada penderita Diabetes Melitus tipe 2. Asam tanat merangsang fosforilasi pada jalur transport glukosa sama seperti yang diperantarai insulin (*insulin-mediated glucose transport*) dengan berikatan secara langsung pada *insulin receptor* (IR). Selanjutnya asam tanat menyebabkan translokasi GLUT 4 pada adiposit, sama seperti mekanisme yang ditunjukkan oleh insulin (Liu, 2004). Sebagai senyawa antilipogenesis asam tanat menghambat diferensiasi adiposit dengan menghambat atau mempengaruhi ekspresi gen kunci yang terlibat dalam proses adipogenesis (Liu, 2004).

2.4.3 Asam galat dan asam elagat

Asam galat (*3,4,5-Trihydroxybenzoic acid*) merupakan radikal pembersih. Pembersihan radikal bebas (R) oleh asam galat menghasilkan radikal asam galat. Senyawa ini dapat bereaksi dengan radikal bebas kedua menghasilkan senyawa kuinon yang stabil. Radikal asam galat yang reaktif akan mengalami terminasi dengan radikal kedua membentuk senyawa kompleks yang stabil (Siswono, 2005).



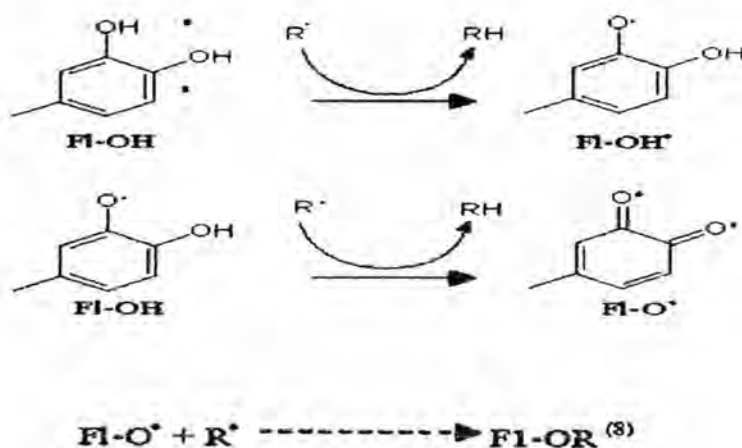
Gambar 2.3: Mekanisme pembersihan (*scavenging*) radikal bebas oleh asam galat dan reaksi terminasi radikal asam galat (Siswono, 2005).

Asam elagat merupakan senyawa yang sangat stabil dan mudah diserap melalui sistem gastrointestinal mamalia termasuk manusia. Asam elagat meningkatkan detoksifikasi karsinogen dengan merangsang aktifitas berbagai isoform enzim glutation-S-transferase pada hepatoma. Asam elagat juga berperan sebagai antioksidan pembersih dan menghambat terjadinya peroksidasi lipid. Pada Diabetes Melitus, asam elagat dapat menurunkan glukosa plasma (Halvorson, 2001).

2.4.4 Flavonoid dan Kuersetin

Flavonoid merupakan suatu kelompok senyawa fenol yang banyak ditemukan di alam. Flavonoid berperan sebagai antioksidan melalui proses *scavenging* radikal bebas. Potensial reduksi senyawa flavonoid yang rendah dapat mereduksi radikal bebas. Radikal flavonoid ($Fl-O^\bullet$) dapat bereaksi kembali dengan senyawa radikal

bebas kedua, membentuk struktur kuinon yang stabil. Radikal flavonoid yang reaktif akan mengalami reaksi terminasi dengan radikal bebas membentuk senyawa flavonoid-radikal (FL-OR) yang stabil dan tidak reaktif. (Siswono, 2005).



Gambar 2.4: Mekanisme pembersihan radikal bebas oleh flavonoid (Siswono, 2005)

Biji jambang mengandung flavonoid dan kuersetin yang berperan dalam menghambat reaksi oksidasi *low density lipoprotein* (LDL).

2.4.5 Hubungan Biji Jambang dengan Diabetes Melitus dan Profil Lemak

Dari keseluruhan tanaman, tidak hanya buah jambang yang dapat dimanfaatkan sebagai obat, bagian daun, biji buah dan kulit kayu juga dapat dimanfaatkan sebagai obat. Jambang berkhasiat antidiabetik, antioksidan, mempunyai aktifitas anti bakterial, anti inflamasi, anti infertilitas, dan anti hiperlipidemia (Sagrawat, 2000; Subroto, 2006). Jambang juga menurunkan risiko timbulnya aterosklerosis sampai 60--90% pada penderita diabetes, karena kandungan asam galat dan flavonoid pada jambang dapat menekan peran radikal bebas dalam terjadinya aterosklerosis.

Dari penelitian yang telah dilakukan oleh Sridhar *et al.*, (2005), dosis biji jambang yang digunakan sebagai antidiabetik adalah 250 mg/kg bb, 500 mg/kg bb, dan 1000 mg/kg bb yang diberikan selama 15 hari pada tikus wistar putih jantan yang diinduksi STZ. Pada ke tiga dosis tersebut menunjukkan efek antidiabetik pada hari ke 15. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Ravi *et al.*, (2004), dosis biji jambang yang digunakan sebagai antioksidan pada tikus wistar putih yang diinduksi STZ adalah 100 mg/kg bb yang diberikan selama selama 30 hari. Hasilnya adalah kadar glukosa plasma turun mendekati normal.

2.5 Streptozotosin

Streptozotosin (STZ, 2 - deoksi - 2 - (3 - (methyl - 3 - nitrosoureido) - D - glucopyranosa, disintesis oleh *streptomyces achromogenes* dan digunakan untuk menginduksi *insulin dependent* dan *non insulin dependent diabetes mellitus* (IDDM dan NIDDM). Rumus kimia STZ adalah $C_8H_{15}N_3O_7$. STZ digunakan untuk menginduksi Diabetes Melitus tipe 2 dengan menggunakan model tikus neonatus. STZ dapat menyebabkan berbagai tahap diabetes tipe 2, seperti gangguan toleransi glukosa, hiperglikemia sedang dan berat (Arulmozhi, 2004). Dosis STZ yang digunakan untuk menginduksi Diabetes Melitus tipe 2 adalah bervariasi sesuai dengan model yang digunakan yaitu 35 – 65 mg/kg bb secara intravena (i.v.) atau intraperitoneal (i.p.) (Srinivasan *and* Ramarao, 2007). Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada tabel berikut ini.

Tabel 2.3 : Variasi zat penginduksi Diabetes Melitus. (Srinivasan and Ramarao, 2007)

Zat penginduksi	Spesies	Dosis (mg/kg)
Aloksan	Tikus	40-200 (iv or ip)
	Mencit	50-200 (iv or ip)
	Kelinci	100-150 (iv)
	Anjing	50-75 (iv)
Streptozotosin	Tikus	35-65 (iv or ip)
	Mencit	100-200 (iv or ip)
	Hamster	50 (ip)
	Anjing	20-30 (iv)
	Babi	100-150 (iv)
	Primata	50-150 (iv)

iv: intravena ; ip: intraperitoneal

Neonatal streptozotocin diabetic rats, model ini menggunakan dosis 100 mg/kg bb secara i.p. yang diberikan pada tikus yang baru lahir (n0). Setelah 8 minggu tikus akan menunjukkan hiperglikemia. Cara lain adalah memberikan STZ pada hari ke dua kelahiran (n2) dan hari ke lima kelahiran (n5) dengan dosis yang digunakan adalah 80 mg/kg bb i.p. Setelah 6 minggu tikus akan menunjukkan hiperglikemia dan gangguan toleransi glukosa (Arulmozhi, 2004).

Saat ini suatu model untuk menginduksi Diabetes Melitus tipe 2 pada hewan telah ditemukan yakni dengan mengkombinasi antara STZ dengan nikotinamid yang diberikan pada tikus dewasa. Tikus diberi nikotinamid dengan dosis 230 mg/kg bb i.p. 15 menit sebelum injeksi STZ dengan dosis 65 mg/kg bb. Pemberian NAD sebagai antioksidan yang menghambat aksi sitotoksik dari STZ dengan membersihkan radikal bebas dan hanya menyebabkan kerusakan minor dari sel β pankreas.

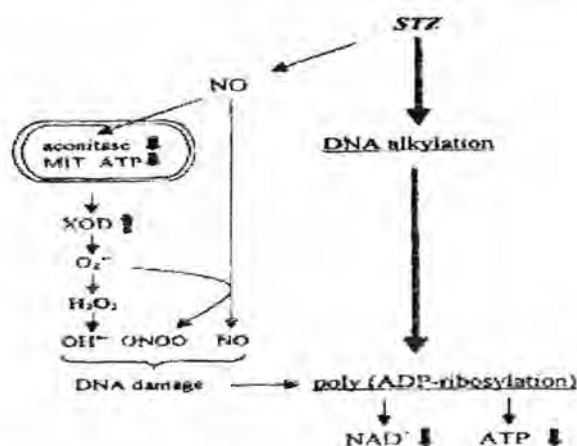
Model lain yang digunakan untuk membuat Diabetes Melitus tipe 2 pada tikus adalah dengan memberikan kombinasi diet tinggi lipid (HFD) atau tinggi fruktosa jangka pendek diikuti dengan injeksi STZ dosis rendah 35 mg/kg bb i.p. Pemberian diet HFD ditujukan untuk menimbulkan kondisi obesitas yang dapat menyebabkan

gangguan hormon insulin sama seperti yang terjadi pada manusia, yang berisiko berkembang menjadi Diabetes Melitus tipe 2 yaitu dengan adanya resistensi insulin (Srinivasan and Ramarao, 2007).

Dari penelitian terdahulu yang menggunakan lidah buaya sebagai antidiabetik, dosis STZ yang digunakan untuk menginduksi Diabetes Melitus adalah dosis tunggal 55 mg/kg bb secara intraperitoneal, dan hasilnya menunjukkan hiperglikemia pada hari ke tujuh (Rajasekaran *et al.*, 2005). Menurut Cattopadyay, (2000) dan Sridhar, (2005) pada penelitian dengan bahan herbal sebagai antidiabetik, dosis STZ yang digunakan untuk menginduksi Diabetes Melitus adalah dosis tunggal 50 mg/kg bb dan menunjukkan hasil hiperglikemia pada hari ke tiga. Dengan dosis ini diduga telah terjadi Diabetes Melitus tipe 2 dengan alasan, kelompok kontrol diabetes dapat tetap hidup sampai hari ke 15 dan kelompok yang diterapi dengan obat sulfonilurea dapat merespon dengan baik, walaupun tanpa diberikan insulin (Sridar, 2005).

STZ diambil oleh sel β pankreas melalui glukosa transporter GLUT 2. Aksi STZ intraseluler ini menyebabkan perubahan DNA sel β pankreas yaitu terjadi fragmentasi DNA melalui alkilasi DNA. STZ merupakan donor NO, NO dapat menyebabkan destruksi sel β pankreas dan menyebabkan kerusakan DNA (Szkudelski, 2001). STZ juga memproduksi ROS yang menyebabkan fragmentasi DNA dan menimbulkan kerusakan sel. Terbentuknya anion superoksida dihasilkan dari aksi STZ di mitokondria dan peningkatan aktifitas xantin oksidase. Hal ini ditunjukkan dengan adanya hambatan oleh STZ pada siklus kreb sehingga menurunkan konsumsi oksigen mitokondria. Efek ini secara kuat membatasi produksi ATP mitokondria dan menyebabkan pengurangan nukleotida ini dalam sel β (Szkudelski, 2001).

Penghambatan pembentukan ATP mitokondria sebagian diperantarai oleh NO. Molekul ini berikatan dengan akonitase pengandung besi (*iron-containing acotinase*) dengan menghambat aktifitas enzim ini. Peningkatan defosforilasi ATP meningkatkan suplai substrat xantin oksidase dan meningkatkan produksi asam urat yang merupakan produk akhir degradasi ATP. Kemudian xantin oksidase mengkatalisis reaksi ini, yang diikuti terbentuknya anion superoksida. Akibatnya anion superoksida menghasilkan hidrogen peroksida dan radikal hidroksil. Aksi sinergis NO dan ROS juga berperan dalam terjadinya fragmentasi DNA. NO dan ROS dapat membentuk peroksinitrit yang dapat menyebabkan kerusakan DNA. Kerusakan DNA yang terjadi setelah pemberian STZ akan mengaktifasi poli ADP ribosilasi. Proses ini menyebabkan penurunan NAD seluler dan ATP yang selanjutnya menimbulkan hambatan sintesis dan sekresi insulin (Szkudelski, 2001).



Gambar 2.5 : Mekanisme streptozotocin (STZ) dalam menyebabkan toksisitas sel β pankreas MIT (mitokondria): XOD (xantin oksidase) (Szkudelski, 2001).

2.6 Diabetes Melitus

2.6.1 Definisi Diabetes Melitus

Diabetes Melitus adalah penyakit kronis yang terjadi ketika pankreas tidak memproduksi cukup insulin, atau ketika tubuh tidak dapat menggunakan secara efektif insulin yang diproduksi. Manifestasi klinik dari gangguan ini adalah adanya hiperglikemia yaitu kadar glukosa plasma puasa $\geq 7,0$ mmol/l (126 mg/dl) atau glukosa plasma 2 jam setelah makan $\geq 11,1$ mmol/l (200 mg/dl) (WHO, 2006).

Tikus putih mempunyai kadar glukosa darah 50 – 135 mg/dl. Berdasarkan hasil penelitian terdahulu, tikus dikatakan menderita Diabetes Melitus apabila kadar glukosa plasma ≥ 250 mg/dl (Ravi *et al.*, 2004; Rajasekaran *et al.*, 2005).

2.6.2 Etiologi dan patofisiologi

Pada kondisi normal, masuknya glukosa ke dalam sel β pankreas memicu sekresi insulin. Pelepasan insulin dibawa oleh darah ke jaringan perifer, selanjutnya berikatan dengan reseptor insulin yaitu famili reseptor tirosin kinase. Adanya jalur berjenjang dari reseptor transmembran ini mengakibatkan pengambilan (*uptake*) glukosa oleh sel untuk dimetabolisme menjadi energi atau disimpan sebagai glikogen. Gangguan apapun yang terjadi sepanjang jalur sel β sampai jaringan perifer dapat menimbulkan hiperglikemi seperti pada Diabetes Melitus. Secara klinis ada 2 tipe Diabetes Melitus yaitu Diabetes Melitus tipe 1 dan tipe 2.

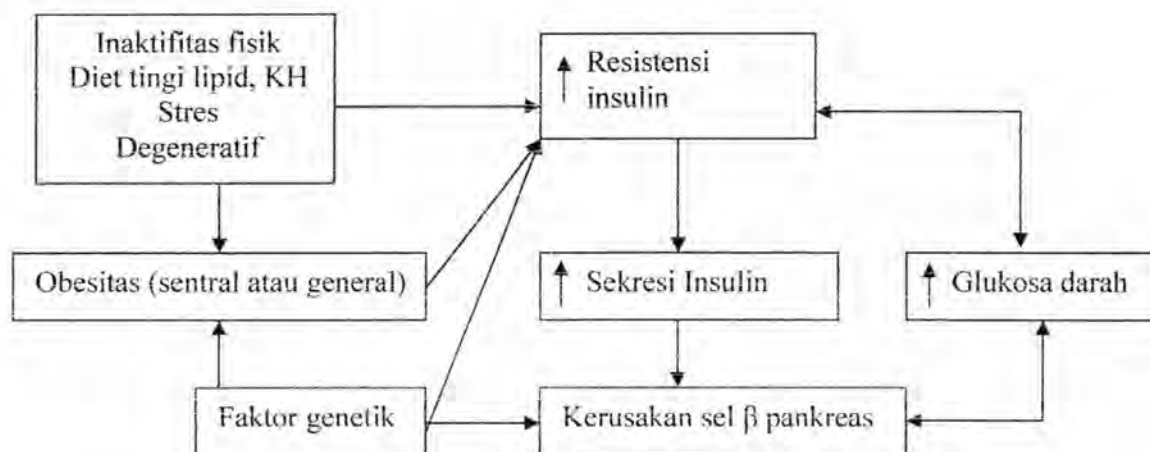
Diabetes Melitus tipe 1 berkaitan dengan faktor genetik, usia muda, proses autoimun dan tergantung pada terapi insulin secara injeksi selama hidupnya. Diabetes Melitus tipe 1 disebabkan oleh defisiensi absolut produksi insulin sebagai akibat

kerusakan sel β pankreas. Kerusakan sel β pankreas terjadi melalui *mechanisms of immune-mediated beta cell killing*, yaitu:

- a. Secara langsung (sel ke sel) interaksi antara limfosit T sitotoksik (CD8) dan autoantigen pada sel β yang mengakibatkan matinya sel β . Autoantigen yang diproses dan disajikan sebagai peptida dalam suatu kompleks molekul MHC klas I pada permukaan sel β dikenali oleh antigen spesifik CD8 limfosit T sitotoksik. Hal ini mengakibatkan *up-regulation* dari sejumlah molekul *co-stimulatory* (FAS/FASL). Terjadinya reaksi berjenjang transduksi sinyal yang mengakibatkan kematian sel β melalui apoptosis.
- b. Secara tidak langsung antigen spesifik CD4 limfosit T helper tidak mengenali autoantigen sel β menyebabkan sel β tidak mengekspresikan molekul MHC klas II. Aktifitas ini dikenali oleh molekul APCs klas II (seperti pada makrofag dan sel dendritik), memicu pelepasan sejumlah sitokin yaitu interferon γ (INF γ), *tumor necrosis factor α* (TNF α), dan NO dari sel T CD4 dan APCs yang mengakibatkan apoptosis sel β .

Diabetes Melitus tipe 2 berkaitan dengan faktor lingkungan seperti diet dan kegiatan fisik, obesitas, usia lanjut dan dianjurkan mengkonsumsi obat antidiabetika oral (Isselbacher *et al.*, 2000; So, 2000). Diabetes Melitus tipe 2 dikarakteristikan oleh disfungsi sel β pankreas dan resistensi insulin pada jaringan sasaran seperti otot skeletal dan jaringan adiposa (Isselbacher *et al.*, 2000; Matthaci *et al.*, 2000). Setelah glukosa dicerna, toleransi glukosa normal tergantung pada tiga hal yaitu: stimulasi sekresi insulin, supresi produksi glukosa endogen, dan stimulasi ambilan glukosa yang diperantarai insulin oleh jaringan perifer terutama otot (DeFronzo, 1999). Pada Diabetes Melitus tipe 2 terjadi abnormalitas pada proses tersebut. Glukosa plasma

tetap normal meskipun terdapat resistensi insulin. Selanjutnya resistensi insulin akan menyebabkan peningkatan sekresi insulin untuk mengkompensasi keadaan resistensi ini. Selanjutnya resistensi insulin cenderung memburuk sehingga walaupun kadar insulin meningkat tampak adanya intoleransi glukosa dalam bentuk hiperglikemia setelah makan. Akhirnya resistensi insulin tidak berubah, sementara sekresi insulin menurun yang menyebabkan hiperglikemia puasa. Hal ini menjadi gejala yang nyata pada penderita Diabetes Melitus (Isselbacher *et al.*, 2000). Resistensi insulin berkaitan dengan adanya gangguan fungsi reseptor insulin, jalur transduksi sinyal reseptor insulin, transport dan fosforilasi glukosa dan sintesis glukosa, dan oksidasi glukosa (DeFronzo, 1999).



Gambar 2.6: Patogenesis DM tipe 2 (So, *et al.*, 2000)

Diabetes Melitus tipe 2 dipengaruhi oleh berbagai faktor dengan manifestasi peningkatan glukosa plasma, resistensi insulin dan kerusakan sel β pankreas.

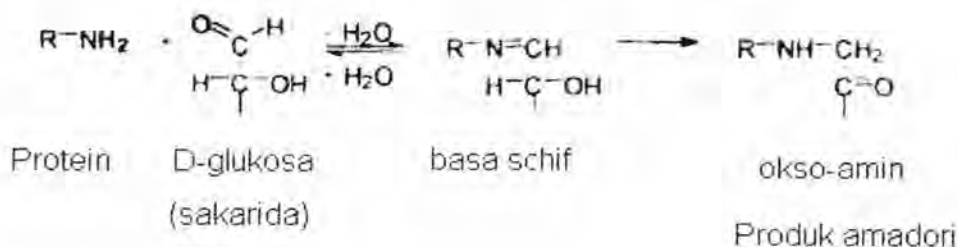
2.6.3 Komplikasi Diabetes Melitus

Bahaya utama penyakit Diabetes Melitus adalah timbulnya komplikasi baik akut maupun kronis. Komplikasi akut meliputi hipoglikemia, ketoasidosis dan koma diabetikum. Komplikasi kronis yang timbul disebabkan karena tingginya kadar glukosa darah (hiperglikemia), meliputi komplikasi mikrovaskuler dan

makrovaskuler. Komplikasi mikrovaskuler meliputi nefropati, retinopati dan neuropati, sedangkan komplikasi makrovaskuler meliputi aterosklerosis dan iskemia jantung yang dapat berisiko menimbulkan morbiditas, mortalitas dan kecacatan 2-4 kali pada penderita Diabetes Melitus (Jakus, 2000; Payne, 2002).

Komplikasi kronis Diabetes Melitus ini tampaknya diperantarai oleh adanya stress oksidatif. Pada Diabetes Melitus stres oksidatif disebabkan oleh peningkatan produksi ROS, penurunan pertahanan antioksidan dan gangguan status redoks seluler. Hiperglikemia memicu peningkatan produksi ROS melalui berbagai mekanisme, yaitu autoksidasi glukosa, glikasi protein, glikosidasi, yang dapat menimbulkan kerusakan jaringan (Jakus, 2000).

Hiperglikemia menyebabkan peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS) seperti anion superoksida melalui rantai transport elektron mitokondria. Produksi anion superoksida mitokondria akan meningkatkan produksi *advanced glycation end product* (AGEs) intraseluler (Creager, 2003). AGEs dihasilkan melalui suatu reaksi antara gugus amino bebas suatu protein dengan gugus karbonil suatu glukosa membentuk intermediet basa-Schiff (*Schiff-base intermediate*) melalui reaksi Maillard (*Maillard reaction*). Selanjutnya intermediet basa-Schiff akan mengalami pembentukan kembali molekul ketoamin dan produk Amadori yaitu oksoamin (Jakus, 2000; Wauttier, 2001). Pada penderita Diabetes Melitus, terjadi peningkatan produksi AGEs, yang menjadi pemicu timbulnya berbagai komplikasi diabetik.





Gambar 2.7 : Glycation, advanced glycation

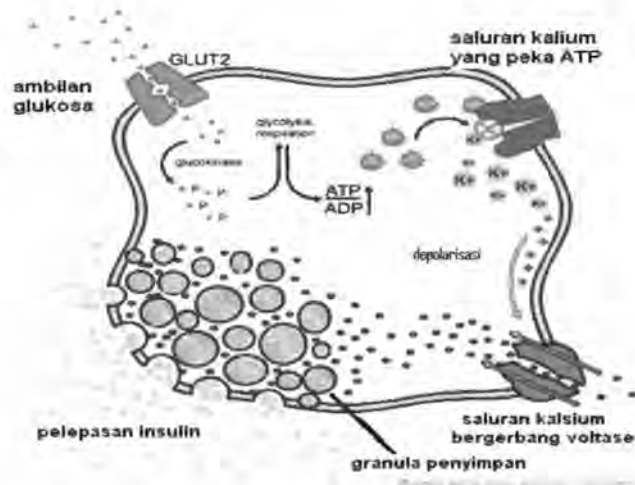
reaksi antara gugus amino bebas suatu protein dengan gugus karbonil suatu glukosa membentuk intermediet basa-Schiff (*Schiff-base intermediate*) melalui reaksi Maillard (*Maillard reaction*), terbentuk produk Amadori, proses selanjutnya akan terbentuk AGEs (Jakus, 2000).

2.6.4 Mekanisme sekresi insulin oleh sel β pankreas

Glukosa dapat melewati sel β pankreas dengan bebas melalui transporter glukosa (GLUT 2). Didalam sitoplasma glukosa akan mengalami fosforilasi melalui alur glikolisis dengan akibat meningkatnya kadar ATP (dan menurunnya kadar ADP) intrasel. Enzim pertama dalam sel β yang berperan dalam glikolisis adalah glukokinase yang merupakan enzim kunci dalam mekanisme sekresi insulin. ATP kemudian terikat pada suatu jenis saluran K^+ peka ATP (*ATP-sensitive K^+ channel*). Aktifasi ATP ini kemudian akan menutup saluran ion tersebut sehingga terjadi penurunan efluks K^+ yang menyebabkan depolarisasi sel β . Depolarisasi membran sel selanjutnya akan membuka saluran Ca^{2+} peka voltase (*voltage-sensitive Ca^{2+} channel*). Sebagai akibatnya Ca^{2+} mengalir masuk kedalam sel. Kadar Ca^{2+} intrasel yang meningkat akan memicu pergerakan gelembung sekresi (*secretory vesicle*) ke arah membran sel yang akhirnya menyebabkan sekresi insulin melalui eksositosis.

Pada manusia dan tikus sekresi insulin bersifat bifasik. Fase pertama langsung disebabkan oleh kenaikan kadar Ca^{2+} intrasel akibat perubahan saluran Ca^{2+} , sedangkan fase kedua timbul karena kenaikan kadar Ca^{2+} intrasel meningkatkan kadar

IP3 (inositol trifosfat) yang selanjutnya melepaskan Ca^{2+} dari cadangan intrasel terutama dari retikulum endoplasma. (Miura, 1997; Suryohudoyo, 2000). Respon sekresi insulin terhenti apabila saluran K^+ bergerbang voltase (*voltage-gated K^+ channel*) yang diaktifkan oleh depolarisasi membran memungkinkan aliran masuk K^+ dalam jumlah cukup untuk memulihkan potensial membran ke tingkat semula. Bila kadar glukosa ekstra sel tetap tinggi, maka siklus kembali berulang dan lebih banyak insulin yang dikeluarkan (Ganong, 1999).



Gambar 2.8: Sekresi insulin (Beta cell biology consortium, 2004)

Glukosa dapat melewati sel β pankreas dengan bebas melalui transporter glukosa (GLUT 2), terjadi glikolisis, penutupan ATP-sensitive potassium channel, pembukaan voltage-gated calcium channel, diikuti dengan sekresi insulin.

2.7 Transport Glukosa

Kadar glukosa bebas intrasel sangat rendah bila dibandingkan dengan kadar ekstrasel. Laju pengangkutan glukosa lewat membran plasma sel otot serta sel adiposa menentukan laju fosforilasi glukosa dan metabolisme selanjutnya bila kadar glukosa serta insulinnya normal. Glukosa memasuki sel melalui proses difusi fasilitatif dan diperantarai oleh karier lewat pengangkut glukosa. Ada berbagai macam pengangkut glukosa (GLUT) yaitu GLUT 1: yang mengangkut glukosa ke

otak, ginjal, kolon, plasenta, eritrosit, GLUT 2: hati, sel β pankreas, usus halus dan ginjal, GLUT 3: otak, ginjal, plasenta, GLUT 4: otot jantung dan rangka, jaringan adiposa, GLUT 5: usus halus. Pengangkutan glukosa pada otot skelet ditingkatkan secara nyata oleh insulin. Sehingga apabila terdapat defisiensi insulin akan terjadi penurunan ambilan glukosa oleh otot skelet dan jaringan adiposa. Sedangkan di hati insulin tidak meningkatkan difusi glukosa ke dalam hepatosit, tetapi secara tidak langsung meningkatkan aliran ke dalam dengan mengubah glukosa intrasel menjadi glukosa 6-fosfat lewat kerja glukokinase, yaitu suatu enzim yang diinduksi oleh insulin (Murray *et al.*, 2003)

2.8 Metabolisme Lipid

Lipid merupakan senyawa organik yang tidak larut di dalam air tetapi larut dalam pelarut non polar seperti eter, benzen dan kloroform (Montgomery, 1993, Murray *et al.*, 2003). Dalam tubuh manusia lipid berfungsi sebagai komponen struktur membran sel, penyimpan energi, bahan bakar metabolik dan pengemulsi. Lipid yang terdapat dalam tubuh dapat diklasifikasikan menurut struktur kimianya ke dalam lima kelompok yaitu asam lemak, triasilgliserol, fosfolipid, sfingolipid, kolesterol dan glikolipid.

2.8.1 Sintesis asam lemak

Asam lemak di dalam tubuh sebagian berasal dari diet dan sebagian disintesis di dalam tubuh sendiri. Tubuh dapat mensintesis asam lemak dari asetil KoA yang berasal dari substrat non lipid, terutama berasal dari karbohidrat. Jalur ini dikenal sebagai sintesis lengkap atau sintesis *de novo* dan terjadi di dalam sitoplasma.

Sintesis *de novo* ini menghasilkan asam lemak jenuh, sebagian besar adalah asam lemak palmitat (Montgomery, 1993).

Jalur untuk sintesis asam lemak yang kedua melibatkan penambahan unit asetat pada ujung karboksil dari rantai asil yang ada. Jalur perpanjangan rantai memerlukan bentuk aktif asam lemak asil KoA sebagai substratnya, Jalur ini dapat memanjangkan baik asam lemak jenuh maupun tak jenuh. Lebih dari satu perpanjangan dapat berlangsung sehingga asam lemak yang mengandung 26 atom karbon dapat dibentuk.

Sintesis asam lemak yang ketiga dapat terjadi melalui desaturasi, yaitu pengadaan ikatan rangkap pada gugus radikal hidrokarbon asam lemak. Ikatan rangkap dapat dimasukkan ke dalam asam lemak oleh enzim desaturase yang memerlukan O_2 dan NADPH.

2.8.2 Sintesis triasilgliserol

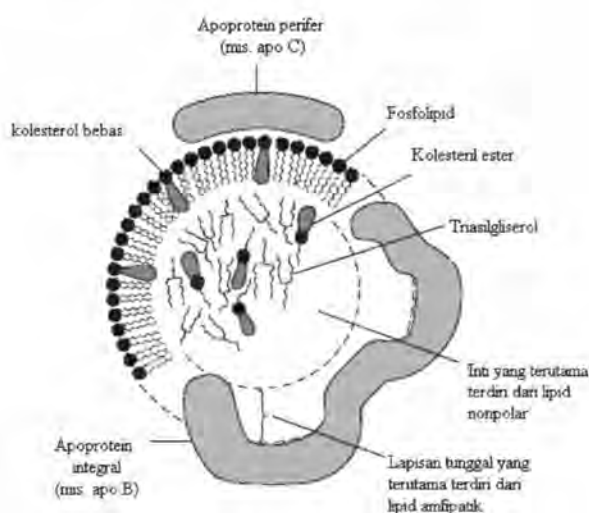
Lipid yang paling sederhana dan paling banyak mengandung asam lemak sebagai unit penyusun adalah triasilgliserol, juga seringkali dinamakan lipid, lipid netral, atau trigliserida. Triasilgliserol adalah ester dari alkohol gliserol dengan tiga molekul asam lemak. Triasilgliserol terutama berfungsi sebagai lipid penyimpan (Lehninger, 1990). Pada manusia kadar triasilgliserol adalah sekitar < 165 mg/dL.

Triasilgliserol disintesis dari senyawa gliserol 3-fosfat. Asam lemak diaktifkan menjadi asil-KoA oleh enzim asil-KoA sintetase, melalui ATP dan KoA. Dua molekul asil-KoA bergabung dengan gliserol 3-fosfat untuk membentuk senyawa fosfatidat (1,2-diasilgliserolfosfat). Senyawa fosfatidat dikonversi oleh enzim fosfatidat fosfohidrolase menjadi 1,2 diasilgliserol. Molekul asil-KoA yang

berikutnya akan diesterifikasi dengan diasilgliserol untuk membentuk triasilgliserol, yang dikatalisis oleh diasilgliserol asil transferase. Di dalam mukosa usus terdapat lintasan monoasilgliserol dan lewat lintasan ini, senyawa monoasilgliserol dirubah menjadi 1,2 diasilgliserol yang dikatalisis oleh enzim monoasilgliserol asiltransferase (Marks *et al.*, 2000; Murray *et al.*, 2003).

2.8.3 Pengangkutan lipid antar jaringan

Lipid yang diserap dari makanan dan lipid yang disintesis oleh hati harus diangkut ke berbagai jaringan dan organ tubuh untuk digunakan serta disimpan. Karena lipid bersifat tak larut dalam air, maka bentuk lipid non polar harus bergabung dengan lipid amfipatik dan protein untuk membentuk lipoprotein yang bisa bercampur dengan air sehingga dapat diangkut di dalam plasma darah (Murray *et al.*, 2003).



Gambar 2.9 Struktur lipoprotein plasma (Murray *et al.*, 2003)

Lipoprotein merupakan suatu partikel berbentuk bulat yang beredar dalam sirkulasi darah dengan struktur dasar berupa bola yang terdiri dari bagian inti (*core*) dan kulit (*surface*). Bagian inti lipoprotein tersusun dari triasilgliserol dan kolesterol

ester yang tidak amfipatik. Sedangkan bagian kulit tersusun dari fosfolipid, kolesterol, dan protein (apoprotein) yang bersifat amfipatik (Koolman *et al.*, 2005). Ada enam jenis lipoprotein yang beredar dalam sirkulasi darah yaitu: kilomikron, *very low density lipoprotein* (VLDL), *intermediate density lipoprotein* (IDL), *low density lipoprotein* (LDL), *high density lipoprotein* (HDL) (Murray *et al.*, 2003; Koolman *et al.*, 2005).

Tabel 2.4 Komposisi lipoprotein di dalam plasma manusia (Murray *et al.*, 2003)

Lipoprotein	Sumber	Diameter (nm)	Densitas (g/mL)	Komposisi		Komponen utama Lipid	Apolipoprotein
				Protein (%)	Lemak (%)		
Kilomikron	Usus	90-1000	< 0.95	1-2	98-99	Triasilgliserol	A-I, A-II, A-IV, ¹ B-48, C-I, C-II, C-III, E
Sisa Kilomikron	Kilomikron	45-150	< 1.006	6-8	92-94	Triasilgliserol Fosfolipid Kolesterol	B-48, E
VLDL	Hati (usus)	30-90	0.95-1.006	7-10	90-93	Triasilgliserol	B-100, C-I, C-II, C-III
IDL	VLDL	25-35	1.006-1.019	11	89	Triasilgliserol Kolesterol	B-100, E
LDL	VLDL	20-25	1.019-1.063	21	79	Kolesterol	B-100
HDL	Hati dan usus, VLDL, kilomikron	20-25	1.019-1.063	32	68	Fosfolipid Kolesterol	A-I, A-II, A-IV, C-I, C-II, C-III, D, ² E
HDL ₂		10-20	1.063-1.125	33	67		
HDL ₃		5-10	1.125-1.210	57	43		
Pre β -HDL ³		< 5	> 1.210				A-I
Albumin/FFA	Jaringan adiposa		> 1.281	99	1	Asam lemak bebas	

Kilomikron mengangkut lipid yang terbentuk dari pencernaan dan penyerapan. Triasilgliserol (sebagai lipid eksogen) diangkut dari usus dalam bentuk kilomikron. Sedangkan triasilgliserol yang disintesis di hati (sebagai lipid endogen) diangkut ke seluruh jaringan tubuh oleh VLDL. Selanjutnya triasilgliserol dilepaskan sebagai asam lemak di jaringan ekstrahepatik, sedangkan kolesterol dilepaskan di hati bersama sisa lipid yang diangkut oleh partikel sisa kilomikron. Setibanya di kapiler jaringan, triasilgliserol akan dihidrolisis oleh lipoprotein lipase dengan bantuan kofaktor apo C-2, menghasilkan asam lemak dan gliserol (Murray *et al.*, 2003).

Senyawa triasilgliserol hepatic merupakan zat bakal langsung triasilgliserol yang terkandung di dalam VLDL plasma. Sintesis triasilgliserol menghasilkan rangsangan untuk pembentukan dan sekresi VLDL. Asam lemak yang digunakan dalam sintesis senyawa triasilgliserol hepatic berasal dari dua kemungkinan sumber: yaitu sintesis di hati dari asetil-KoA yang terutama berasal dari karbohidrat dan ambilan asam lemak bebas dari sirkulasi darah. Secara normal triasilgliserol tidak terkumpul dalam hati, tetapi akan diangkut dari hati dalam bentuk VLDL. Pada Diabetes Melitus kadar asam lemak bebas di dalam darah akan meningkat dan lebih banyak lagi asam lemak bebas yang ditarik ke dalam hati. Pada keadaan ini lipogenesis akan terhambat sehingga asam lemak bebas merupakan sumber utama asam lemak triasilgliserol di hati dan VLDL.

IDL merupakan lipoprotein yang disintesis dari VLDL, dan merupakan zat bakal LDL. Sebagian besar IDL mengalami hidrolisis lebih lanjut sehingga triasilgliserolnya semakin berkurang dan intinya menyusut, dan berubahlah lipoprotein ini menjadi LDL. Sebagian IDL lepas dan beredar tanpa berubah menjadi LDL dan diambil oleh hati melalui pengikatan oleh reseptor apo B-100, E.

LDL merupakan lipoprotein yang kaya akan kolesterol serta terbentuk dari metabolisme VLDL. LDL berikatan dengan reseptor Apo B 100, Apo E (reseptor LDL) yang didapati di hampir semua jaringan tubuh (hati 70%, jaringan ekstrahepatik 30%). Bagi jaringan ekstrahepatik reseptor ini penting untuk mengambil LDL beserta kolesterol yang diperlukannya, sedangkan bagi hati reseptor yang sama, penting untuk mengambil kolesterol yang masuk bersama LDL guna diekskresi melalui saluran empedu.

Setelah berikatan dengan reseptor, LDL diambil dalam keadaan utuh melalui endositosis. Kemudian LDL dipecah di dalam lisosom yang melibatkan hidrolisis apoprotein dan ester kolesteril yang diikuti oleh translokasi kolesterol ke dalam sel. Reseptor tersebut tidak dihancurkan tetapi kembali ke permukaan sel. Aliran masuk kolesterol ini menghambat kerja HMG-KoA sintase serta HMG-KoA reduktase dengan cara yang terkoordinasi, dan dengan demikian menghambat sintesis kolesterol serta merangsang aktifitas ACAT (asil-KoA: kolesterol asil transferase) dan mengurangi sintesis reseptor LDL. Dengan demikian pengambilan kolesterol melalui reseptor LDL tak akan mengakibatkan penumpukan kolesterol secara berlebihan di dalam sel.

HDL merupakan lipoprotein yang kaya akan kolesterol tetapi terlibat di dalam pengeluaran kolesterol dari jaringan serta pada metabolisme jenis lipoprotein lainnya. HDL disintesis dan disekresi oleh hati maupun intestinum. Meskipun demikian HDL nascent (HDL yang baru disekresi) dari intestinum tidak mengandung apolipoprotein C atau E, tetapi hanya mengandung apolipoprotein A. Jadi, apo C dan E disintesis di hati dan dipindahkan ke HDL intestinum ketika HDL ini memasuki plasma darah. Fungsi utama HDL adalah bertindak sebagai tempat penyimpanan untuk apo C dan E yang dibutuhkan dalam metabolisme kilomikron dan VLDL.

Siklus HDL dikemukakan untuk menjelaskan pengangkutan kolesterol dari jaringan ke hati pada proses yang dikenal sebagai pengangkutan balik kolesterol. Siklus tersebut melibatkan ambilan dan esterifikasi kolesterol oleh HDL₃ yang menjadi lebih besar dan kurang rapat dengan membentuk HDL₂. Enzim lipase hepatik menghidrolisis fosfolipid HDL dan triasilgliserol yang memungkinkan partikel senyawa ini melepaskan muatan ester kolesterilnya ke hati, tempat partikel tersebut

menjadi lebih rapat lagi, membentuk kembali HDL₃ yang memasuki kembali siklus tersebut. Disamping itu, apo A-1 bebas akan dilepas dan memasuki kembali sirkulasi dengan membentuk pre β -HDL sesudah berikatan dengan fosfolipid dan kolesterol dalam jumlah minimal. Pre β -HDL merupakan bentuk HDL yang paling poten dalam menginduksi aliran keluar kolesterol dari jaringan untuk membentuk HDL diskoid yang selanjutnya akan mengambil lebih banyak lagi kolesterol untuk membentuk HDL₃. Setiap kelebihan apo A-1 akan dihancurkan di ginjal.

Kadar HDL bervariasi secara timbal balik dengan konsentrasi triasilgliserol plasma dan secara langsung dengan aktifitas lipoprotein lipase. Kenyataan ini mungkin disebabkan oleh kelebihan bahan penyusun permukaan misalnya fosfolipid dan apo A-1 yang dilepaskan selama hidrolisis kilomikron serta VLDL dan turut berperan kearah pembentukan pre β -HDL serta HDL diskoid. Kadar HDL (HDL) berhubungan secara bermakna dengan insiden aterosklerosis koroner, dan keadaan ini mungkin terjadi karena kadar HDL mencerminkan efisiensi pembersihan kolesterol dari jaringan.

2.8.4 Metabolisme kolesterol

Kolesterol terdapat di dalam jaringan dan lipoprotein plasma, yang bisa dalam bentuk kolesterol bebas atau gabungan dengan asam lemak rantai panjang sebagai ester kolesterol. Pada manusia kadar kolesterol total dalam plasma adalah sekitar 5,2 mmol/L, dan kadar ini meningkat sebanding dengan peningkatan usia serta memiliki variasi yang besar di antara masing-masing individu.

Kolesterol disintesis di dalam tubuh dari asetil-KoA lewat sebuah jalur yang kompleks. Tiga molekul asetil-KoA membentuk hidroksimetilglutaril-KoA (HMG-

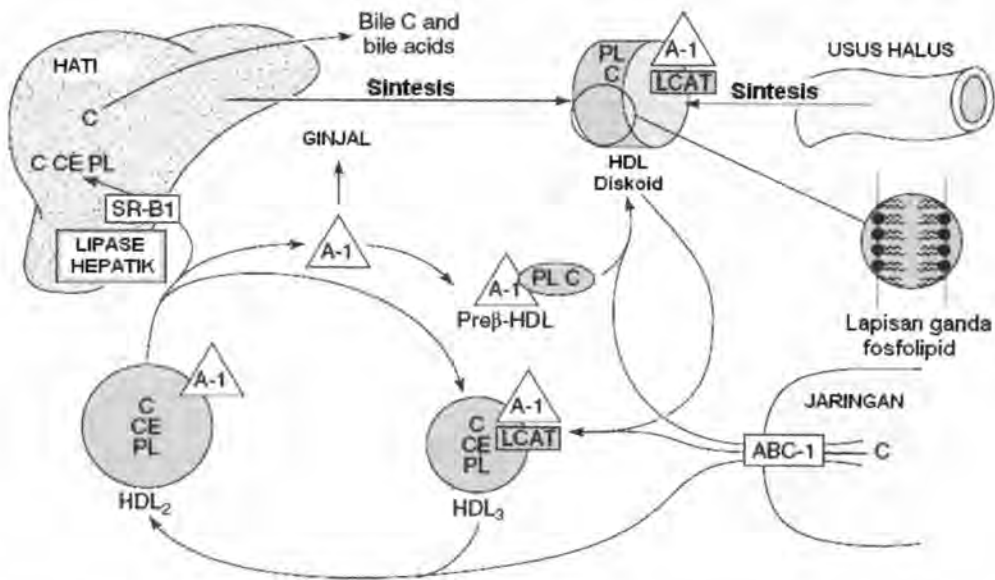
KoA). Reduksi HMG-KoA menghasilkan mevalonat lewat reaksi penting yang dikatalisis oleh HMG-KoA reduktase. Unit isoprenoid lima-karbon terbentuk dari mevalonat, dan enam unit isoprenoid mengadakan penggabungan untuk membentuk skualen. Skualen menjalani siklisasi untuk membentuk senyawa induk steroid lanosterol, yang setelah kehilangan tiga gugus metilnya, membentuk kolesterol (Marks, 2000; Murray *et al.*, 2003).

Sintesis kolesterol di hati diatur sebagian oleh aliran-masuk kolesterol makanan dalam bentuk sisa kilomikron yang kaya kolesterol. Di dalam jaringan, keseimbangan kolesterol pada umumnya dipertahankan oleh berbagai faktor yang menyebabkan diperolehnya kolesterol yaitu ambilan lipoprotein yang mengandung kolesterol oleh reseptor (misalnya reseptor LDL atau reseptor *scavenger*), ambilan lipoprotein yang mengandung kolesterol oleh lintasan yang tidak menggunakan reseptor, pengambilan kolesterol bebas dari lipoprotein yang kaya akan kolesterol oleh membran sel, sintesis kolesterol, dan hidrolisis ester kolesteril oleh enzim ester kolesteril hidrolase. Sedangkan faktor yang menyebabkan hilangnya kolesterol jaringan adalah: pembentukan ester kolesteril dan pengangkutan balik kolesterol lewat HDL, penggunaan kolesterol untuk sintesis senyawa steroid (Murray *et al.*, 2003).

Pada pengangkutan balik kolesterol, HDL terikat pada reseptor A-1 yaitu ABC-1 (*ATP-binding cassette transporter-1*) yang menyebabkan translokasi kolesterol ke membran sel tempat kolesterol ini diambil oleh HDL. Setelah diterima oleh HDL₃, kolesterol diesterifikasi oleh LCAT (*lecithin cholesterol acyltransferase*) membentuk kolesterol ester dan terbentuklah HDL₂. Siklus terbentuknya kembali HDL₃ dari HDL₂ adalah melalui pelepasan kolesterol ester melalui SR-B1 (*scavenger*

receptor B1) atau hidrolisis fosfolipid dan trigliserida oleh enzim lipase hepatic. Disamping itu, Apo A1 bebas akan dilepaskan dan diekskresikan melalui ginjal dan memasuki kembali sirkulasi dengan membentuk Pre β -HDL sesudah berikatan dengan fosfolipid dan kolesterol dalam jumlah yang kecil. Pre β -HDL merupakan bentuk HDL yang paling poten dalam menginduksi aliran keluar kolesterol dari jaringan untuk membentuk HDL diskoid yang selanjutnya akan mengambil lebih banyak lagi kolesterol untuk membentuk HDL₃.

Kolesterol yang berlebihan diekskresi dari hati ke dalam empedu sebagai kolesterol atau garam empedu. Sejumlah besar garam empedu diabsorpsi ke dalam sirkulasi porta dan kembali ke hati sebagai bagian dari sirkulasi enterohepatik. Kenaikan kadar kolesterol yang terdapat pada VLDL, IDL atau LDL berkaitan dengan penyakit aterosklerosis, sedangkan kadar HDL yang tinggi mempunyai efek protektif (Murray *et al.*, 2003).



Gambar 2.11 Metabolisme HDL pada pengangkutan balik kolesterol (Murray *et al.*, 2003)

2.9 Profil Lipid Pada Diabetes Melitus

Gangguan metabolisme lipid (dislipidemia) yang timbul pada Diabetes Melitus biasanya berupa triad lipid yaitu hipertrigliseridemia, hiperkolesterolemia, terutama kolesterol LDL dan rendahnya kadar kolesterol HDL (Suparman, 2003).

Diabetes Melitus tipe dua disebabkan adanya resistensi insulin yang mengakibatkan kadar insulin makin lama makin tinggi (hiperinsulinemia). Walaupun kadar insulin meningkat dalam darah, tetapi karena jumlah atau aktifitas reseptor insulin menurun, maka jaringan target menjadi kurang peka terhadap insulin. Sehingga resistensi insulin ini akan menyebabkan intoleransi glukosa, peningkatan trigliserida, VLDL, dan penurunan kolesterol HDL (Suparman, 2003).

2.9.1 Peningkatan trigliserida dan kolesterol VLDL

Insulin merupakan inhibitor kuat proses lipolisis di hati dan jaringan adiposa dengan menghambat aktifitas enzim lipase yang peka hormon (*hormon-sensitive lipase*). Pada keadaan resistensi insulin, aktifitas reseptor insulin menurun, maka hambatan terhadap enzim lipase yang peka hormon akan berkurang, akibatnya lipolisis akan meningkat, yang menyebabkan peningkatan asam lemak bebas dalam darah, yang disebut sebagai mobilisasi asam lemak bebas dari jaringan adiposa. Asam lemak bebas ini akan lebih banyak ditarik ke dalam hati. Pada keadaan ini lipogenesis akan terhambat sehingga asam lemak bebas merupakan sumber utama asam lemak trigliserida di hati (Murray *et al.*, 2003).

Sintesis trigliserida mengakibatkan rangsangan segera untuk pembentukan dan sekresi VLDL. Peningkatan asam lemak bebas dalam darah merupakan salah satu faktor yang meningkatkan sintesis trigliserida dan VLDL. Selain itu resistensi insulin menyebabkan peningkatan sekresi Apo B dan Apo C III di hati. Apo B-100 adalah

protein utama pada VLDL, sehingga dengan peningkatan Apo B maka sintesis trigliserida juga meningkat. Apo CIII adalah protein yang mempunyai peran dalam mencegah aktifitas lipoprotein lipase dan menghambat ambilan lipoprotein melalui *LDL receptor-related protein (LRP)* (Goldberg, 2001)

Insulin dapat meningkatkan aktifitas lipoprotein lipase. Resistensi insulin menyebabkan penurunan aktifitas enzim lipoprotein lipase, akibatnya hidrolisis trigliserida dalam inti VLDL menurun, sehingga terjadi peningkatan kadar trigliserida dan VLDL (Goldberg, 2001).

2.9.2 Peningkatan kolesterol LDL

VLDL merupakan zat bakal terbentuknya IDL dan IDL merupakan zat bakal terbentuknya LDL yang merupakan lipoprotein yang kaya kolesterol. Setiap partikel LDL berasal dari satu partikel VLDL, sehingga kenaikan VLDL ini akan menyebabkan kenaikan LDL (Murray *et al.*, 2003).

Pada Diabetes Melitus, hiperglikemia yang berkepanjangan meningkatkan laju perlekatan nonenzimatik glukosa ke berbagai protein di dalam tubuh, suatu proses yang disebut sebagai glikasi atau glikosilasi protein. Glikasi dapat mengganggu struktur dan/atau fungsi protein yang terlibat. Glikasi reseptor LDL dan protein dalam partikel LDL dapat mengganggu kecocokan partikel LDL dengan reseptor spesifiknya. Akibatnya, LDL dalam darah yang diserap oleh sel berkurang sehingga kadar kolesterol LDL serum meningkat (Marks *et al.*, 2003).

Peningkatan trigliserida dalam VLDL yang tidak mengalami lipolisis oleh enzim lipoprotein lipase akan dipindahkan oleh CETP (*cholesteryl ester transfer protein*) ke dalam LDL, sehingga terjadi peningkatan pembentukan LDL yang kaya trigliserida yang disebut sebagai *small dense LDL*. Peningkatan kadar LDL ini

memudahkan terjadinya proses oksidasi pada senyawa penyusun LDL (Goldberg, 2001). LDL yang mengalami oksidasi tersebut tidak dapat berinteraksi secara baik dengan reseptor LDL, tetapi akan berikatan dengan reseptor lain yang terdapat pada permukaan membran sel makrofag dan selanjutnya LDL termodifikasi akan memasuki makrofag. Berbeda dengan LDL yang masuk melalui reseptor LDL, LDL termodifikasi yang masuk ke dalam makrofag melalui reseptor khusus ini tak mampu menghambat enzim HMG-KoA reduktase, sehingga sintesis kolesterol dalam sel itu sendiri tetap berlangsung. Keadaan ini menyebabkan tertumpuknya kolesterol dalam jaringan dan merupakan faktor penyebab timbulnya aterosklerosis.

2.9.3 Penurunan kolesterol HDL

HDL merupakan lipoprotein yang disintesis oleh hati dan usus yang berfungsi mengangkut kolesterol dari jaringan ekstrahepatik untuk dibawa kembali ke hati yang selanjutnya akan diekskresikan. Banyak penelitian epidemiologis yang menunjukkan adanya hubungan antara kenaikan plasma insulin dengan rendahnya kadar HDL seperti pada penderita Diabetes Melitus tipe dua. Walaupun sintesis HDL meningkat tetapi degradasinya juga meningkat, sehingga pada hasil akhirnya didapatkan kadar HDL yang rendah (Suparman, 2003).

CETP (*cholesteryl ester transfer protein*), memperantarai pertukaran trigliserida dari VLDL ke HDL dan kolesterol ester dari HDL ke VLDL. Hipetrigliserida akan mempercepat pertukaran trigliserida VLDL ke HDL, akibatnya inti HDL lebih banyak trigliserida bukan kolesterol ester yang disebut sebagai *small dense* HDL, sehingga pada pengukuran klinis diperoleh penurunan kadar kolesterol HDL. Selain itu enzim lipase hepatic dengan cepat akan membersihkan HDL yang kaya trigliserida ini (Golberg, 2001).

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Dasar Teori

Diabetes Melitus disebabkan oleh defisiensi insulin atau resistensi insulin, yang menimbulkan manifestasi hiperglikemia dan peningkatan kadar asam lemak bebas. Hiperglikemia dapat menyebabkan proses glikasi atau glikosilasi pada reseptor LDL, sehingga menurunkan ambilan kolesterol LDL oleh jaringan yang berakibat peningkatan kadar kolesterol LDL dalam darah.

Resistensi insulin pada Diabetes Melitus tipe dua meningkatkan aktifitas enzim lipase yang peka hormon, sehingga lipolisis akan meningkat, akibatnya kadar asam lemak bebas di dalam darah akan meningkat dan lebih banyak lagi asam lemak bebas yang ditarik ke dalam hati. Peningkatan asam lemak di hati menyebabkan peningkatan sintesis triasilgliserol dan VLDL (peningkatan trigliserida dan VLDL). Selanjutnya VLDL akan diekskresikan ke dalam sirkulasi. Tingginya VLDL dalam darah mengakibatkan peningkatan sintesis LDL.

Peningkatan kadar LDL dalam darah dapat mengalami oksidasi sehingga tidak dapat berinteraksi dengan reseptor LDL dan menyebabkan terjadinya peningkatan ambilan kolesterol LDL melalui reseptor lain bukan reseptor LDL. Hal ini menyebabkan peningkatan aktivitas enzim HMG Ko-A reduktase untuk memproduksi kolesterol jaringan lebih banyak lagi.

Hipertrigliseridemia dapat menyebabkan terjadinya penurunan kolesterol HDL, melalui peningkatan perpindahan trigliserida VLDL ke HDL, yang menyebabkan terbentuknya HDL yang kaya trigliserida, yang dengan mudah

dibersihkan oleh lipase hepatic. Hal ini merupakan penyebab turunnya kadar kolesterol HDL dalam darah. Kadar HDL yang rendah tidak mampu melakukan pengangkutan balik kolesterol ke hati untuk selanjutnya diekskresikan. Kolesterol total merupakan penjumlahan kolesterol yang berada dalam kolesterol VLDL, LDL dan HDL.

Ekstrak biji jambang mengandung tanin, kuersetin, flavonoid, asam galat dan asam elagat dan mineral kromium dan magnesium, yang diduga dapat menurunkan kadar glukosa darah dan menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida, kolesterol LDL dan meningkatkan kadar kolesterol HDL. Kromium dan tanin dapat meningkatkan aktivitas reseptor insulin dan merangsang translokasi GLUT 4. Asam galat, flavonoid dan kuersetin merupakan antioksidan yang dapat meredam ROS yang terbentuk pada Diabetes Melitus. Pada Diabetes Melitus asam elagat diduga dapat menghambat kerusakan sel beta pankreas lebih lanjut, sehingga sel beta pankreas dapat mensintesis insulin.

3.3 Hipotesis

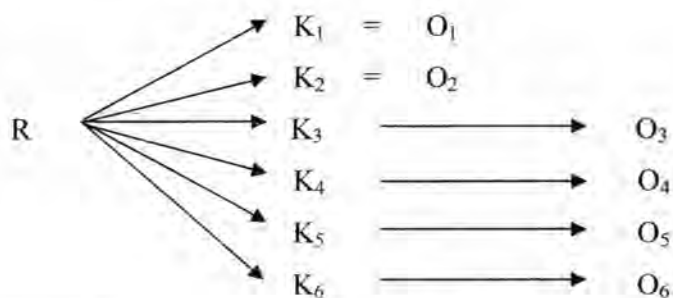
- 3.3.1 Ekstrak biji jamblang dapat menurunkan kadar glukosa serum tikus putih jantan yang diinduksi streptozotosin
- 3.3.2 Ekstrak biji jamblang dapat menurunkan kadar kolesterol total serum tikus putih jantan yang diinduksi streptozotosin
- 3.3.3 Ekstrak biji jamblang dapat menurunkan kadar kolesterol LDL serum tikus putih jantan yang diinduksi streptozotosin
- 3.3.4 Ekstrak biji jamblang dapat meningkatkan kadar kolesterol HDL serum tikus putih jantan yang diinduksi streptozotosin
- 3.3.5 Ekstrak biji jamblang dapat menurunkan kadar trigliserida serum tikus putih jantan yang diinduksi streptozotosin

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratoris dengan menggunakan rancangan acak lengkap, secara skematis rancangan penelitian tersebut dapat digambarkan sebagai berikut:



Keterangan:

- R : Randomisasi subyek penelitian
- K₁ : Kelompok kontrol yang tidak diinjeksi yang diukur awal kadar glukosa dan profil lemak
- K₂ : Kelompok kontrol positif, diberikan injeksi STZ 50 mg/kg bb yang diukur awal kadar glukosa dan profil lemak
- K₃ : Kelompok kontrol positif, diberikan injeksi STZ 50 mg/kg bb dan diberikan aqua
- K₄ : Kelompok perlakuan, diberikan injeksi streptozotosin 50 mg/kg bb dan diberikan ekstrak biji jambang 250 mg/kg bb/hari
- K₅ : Kelompok perlakuan, diberikan injeksi streptozotosin 50 mg/kg bb dan diberikan ekstrak biji jambang 500 mg/kg bb/hari
- K₆ : Kelompok perlakuan, diberikan injeksi streptozotosin 50 mg/kg bb dan diberikan ekstrak biji jambang 1000 mg/kg bb/hari
- O : Observasi

4.2 Unit Eksperimen dan Replikasi

Unit eksperimen pada penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) yang berumur 1 – 2 bulan dengan berat badan 100 – 200 gram. Besar replikasi minimal untuk pengujian hipotesis penelitian ditentukan berdasarkan rumus (Hanafiah, 2003):

$$(t - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$(6 - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$r \geq 4$$

t = jumlah kelompok

r = jumlah replikasi

Jadi jumlah replikasi minimal perkelompok adalah 4

Karena waktu penelitian cukup lama, untuk menjaga kemungkinan hewan coba mati, $(f) \pm 20\%$, sehingga besar replikasi dikalikan $1/(1-f)$ (Higgins dan Kleinbaum, 1985), sehingga:

$$1/(1-0.2) \times 4 = 5$$

Sehingga replikasi pada penelitian ini adalah 5 ekor per kelompok perlakuan.

4.3 Variabel penelitian

4.3.1 Klasifikasi variabel

1. Variabel bebas: pemberian ekstrak biji jambang
2. Variabel tergantung:
 - (1) Kadar glukosa serum
 - (2) Kadar kolesterol total serum

(3) Kadar trigliserida serum

(4) Kadar kolesterol LDL

(5) Kadar kolesterol HDL

3. Variabel kendali

(1) Umur tikus

(2) Jenis kelamin tikus

(3) Berat badan tikus

(4) Perawatan dan sanitasi kandang

(5) Makanan dan minuman tikus

(6) Waktu perlakuan

(7) Darah yang dijadikan bahan penelitian

4.3.2 Definisi operasional

Variabel yang digunakan pada penelitian ini dapat didefinisikan sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak biji jambang adalah pemberian ekstrak biji jambang yang diberikan menggunakan sonde melalui mulut tikus.
2. Kadar glukosa serum adalah kadar glukosa dalam serum yang diukur dengan menggunakan metode enzimatik (GOD-PAP) dengan satuan mg/dl
3. Kadar kolesterol total adalah kadar kolesterol yang diangkut oleh semua lipoprotein serum meliputi kolesterol yang terdapat dalam kilomikron, VLDL, LDL, dan HDL, yang ditentukan dengan metode CHOD-PAP menggunakan alat spektrofotometer dengan satuan mg/dl
4. Kadar trigliserida adalah kadar trigliserida yang terkandung dalam serum yang diukur dengan *triglycerides* GPO-PAP, dengan satuan mg/dl

5. Kadar kolesterol LDL adalah kadar kolesterol yang diangkut dalam LDL yang merupakan lipoprotein pengangkut kolesterol utama dalam darah dengan densitas lebih dari $1,019 \text{ g/cm}^3$ dan kurang dari $1,063 \text{ g/cm}^3$ (Striyer, 2000) ditentukan dengan metode enzimatik menggunakan alat spektrofotometer dengan satuan mg/dl.
6. Kadar kolesterol HDL adalah kadar kolesterol yang diangkut dalam HDL yang merupakan lipoprotein pengangkut kolesterol dalam darah dengan densitas lebih dari $1,063 \text{ g/cm}^3$ dan kurang dari $1,21 \text{ g/cm}^3$ (Striyer, 2000) ditentukan dengan metode enzimatik menggunakan alat spektrofotometer dengan satuan mg/dl
7. Streptozotosin (*STZ*, *2-deoksi-2-(3-(methyl-3-nitrosoureido)-D-glucopyranosa*, adalah senyawa yang menginduksi *insulin dependent* dan *non insulin dependent diabetes mellitus* (IDDM dan NIDDM), yang diperoleh dari MP Biomedicals, LLC dengan nomer katalog 1005557

4.4 Bahan Penelitian

- 4.4.1 Hewan coba adalah *Rattus novergicus strain Wistar* dengan jenis kelamin jantan, umur 1 – 2 bulan dengan berat badan 100 – 200 gram.
- 4.4.2 Biji jambang kering diekstraksi dengan ekstraksi maserasi menggunakan pelarut alkohol 96% dengan cara: biji jambang digiling hingga lembut kemudian direndam dengan pelarut alkohol 96% selama 24 jam dan disaring, diulangi sampai 7 kali hingga diperoleh ekstrak biji jambang encer. Ekstrak biji jambang encer tersebut dipekatkan dengan alat *Rotary Evaporator* melalui penurunan tekanan pada suhu $40 - 45^\circ\text{C}$ sehingga diperoleh ekstrak biji

jamblang. Pembuatan ekstrak biji jamblang dikerjakan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi UNAIR Surabaya.

4.4.3 *Streptozotocin* (2 – Deoxy - 2 (methyl - nitrosoamino) - carbonyl) - amino – D- glucopyranose) yang diperoleh dari MP *Biomedicals*, LLC dengan nomer katalog 100557.

4.4.4 Pakan tikus dan aqua, serta sekam untuk alas tidur

4.4.5 Ether untuk pembiusan yang diperoleh dari Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran UNAIR Surabaya.

4.4.6 Buffer sitrat 0,01 M, pH 4,5

4.4.7 Aqua untuk pelarut ekstrak biji jamblang

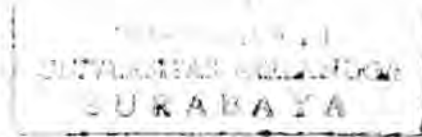
4.5 Instrumen penelitian

4.5.1 Alat untuk pemeliharaan dan perlakuan hewan coba

1. Kandang plastik polypropilen ukuran 20 cm x 30 cm x 40 cm yang ditutup dengan kawat kasa dengan ukuran 6 mm
2. Botol minum
3. Tempat makan dari aluminium
4. Sekam
5. Alat suntik (*syringe*) 1 cc yang ujungnya dimodifikasi
6. Timbangan untuk menimbang berat badan tikus

4.5.2 Alat untuk pembiusan

1. Toples kecil dan penutupnya dari kaca untuk pembiusan
2. Alat fiksasi dan diseksi hewan coba



4.5.3 Alat untuk penyuntikan dan pengambilan darah

1. Alat suntik 1 cc untuk menyuntikkan streptozotosin dan mengambil darah
2. Botol untuk mengencerkan atau melarutkan streptozotosin
3. Timbangan anatomik untuk menentukan dosis streptozotosin dan ekstrak biji jambang

4.5.4 Kit untuk pemeriksaan kadar glukosa serum

4.5.5 Kit untuk pemeriksaan kadar kolesterol total, trigliserida, kolesterol HDL, kolesterol LDL serum.

4.6 Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Unair untuk pemeliharaan dan perlakuan hewan coba serta pengambilan darah dan Fakultas Farmasi Unair untuk pembuatan ekstrak biji jambang.

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Januari sampai dengan Desember 2007.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Aklimatisasi

Aklimatisasi hewan coba selama 1 minggu dalam kondisi di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Unair. Jika terdapat tikus yang sakit atau mati akan dikeluarkan dari penelitian.

4.7.2 Pembagian kelompok hewan coba

Dilakukan pengacakan 30 ekor tikus, yang dibagi menjadi enam kelompok yaitu kelompok 1, kelompok 2, kelompok 3, kelompok 4, kelompok 5, dan kelompok 6 masing-masing sebanyak 5 ekor tikus. Tikus

pada kelompok 1 diambil darahnya untuk diperiksa kadar glukosa serum dan profil lemak serum pada hari kedelapan.

4.7.3 Membuat hewan coba menjadi diabetes.

Tikus pada kelompok 2, 3, 4, 5, 6 dijadikan diabetes dengan diinjeksi STZ dosis tunggal 50 mg/kg bb secara intraperitoneal. Pada hari kedelapan, darah tikus pada kelompok 2 diambil untuk diperiksa kadar glukosa serum dan profil lemak serum. Hasil dibandingkan dengan kelompok 1 untuk mengetahui terjadinya Diabetes Melitus.

Kemudian kelompok 3 sebagai kelompok kontrol dan kelompok 4, 5, dan 6 sebagai kelompok perlakuan sampai hari ke 15, diperlakukan sebagai berikut

Kelompok 3 : kelompok kontrol positif, diberi aqua sebanyak 2 ml/200 g bb tikus /hari lewat sonde.

Kelompok 4 : kelompok perlakuan dengan diberi ekstrak biji jambang 250 mg/kg bb dalam 2 ml/200 g bb tikus/hari aqua lewat sonde.

Kelompok 5 : kelompok perlakuan dengan diberi ekstrak biji jambang 500 mg/kg bb dalam 2 ml/200 g bb tikus/hari aqua lewat sonde.

Kelompok 6 : kelompok perlakuan dengan diberi ekstrak biji jambang 1000 mg/kg bb dalam 2 ml/200 g bb tikus/hari aqua lewat sonde.

4.7.4 Penimbangan berat badan

Penimbangan berat badan tikus dilakukan pada pagi hari sebelum penyuntikan STZ untuk penyesuaian dosis STZ. Setelah hari kedelapan, tikus akan ditimbang setiap hari untuk penyesuaian dosis ekstrak biji jambang. Penimbangan berat badan tikus ini dilakukan dengan menggunakan timbangan Torbal (*Torsion Balance*) dalam satuan gram.

4.7.5 Pengambilan darah

Darah diambil dari jantung tikus. Sebelumnya tikus dipuasakan sejak malam hari (8 jam) minum tetap diberikan dan pada pagi hari dilakukan penimbangan terakhir. Setelah ditimbang, dilakukan pembiusan pada tikus dengan ether di dalam toples pembiusan. Kurang lebih 2 menit kemudian mata meredup dan badan tidak bergerak. Selanjutnya kulit perut disayat dengan pisau bedah dan setelah terlihat jantungnya, darah diambil dengan alat suntik 5 ml sebanyak 3 ml. Setelah darah diambil, dilakukan pembiusan dalam sampai tikus mati. Kemudian tikus yang sudah mati akan dikuburkan.

4.8 Pengambilan data

4.8.1 Pemeriksaan kadar glukosa serum

Kadar glukosa serum ditentukan dengan metode enzimatik (GOD-PAP). Dengan adanya oksigen atau udara, glukosa dioksidasi oleh enzim glukosa oksidase (GOD) menjadi asam glukonat disertai pembentukan H_2O_2 . Dengan adanya enzim peroksidase (POD), H_2O_2 akan menghasilkan H_2O . Kadar glukosa darah ditentukan berdasarkan intensitas warna yang terjadi dan diukur dengan spektrofotometer. Pengukuran dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan Daerah Surabaya.

4.8.2 Pemeriksaan kadar kolesterol total

Untuk menentukan kadar kolesterol total dalam darah digunakan metode CHOD-PAP. Kolesterol ester dihidrolisis oleh enzim kolesterol esterase menjadi kolesterol bebas dan asam lemak. Selanjutnya kolesterol dioksidasi oleh enzim kolesterol oksidase, menghasilkan Δ^4 kolesterol dan H_2O_2 . H_2O_2 ini

akan bereaksi dengan 4-aminofenazone dan fenol dalam suatu reaksi yang dikatalisis oleh peroksidase, menghasilkan 4-(p-benzoquinon-monoimino)-fenazon yang mempunyai warna dan H_2O . Pengukuran dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan Daerah Surabaya.

4.8.3 Pemeriksaan kadar trigliserida

Trigliserida diukur dengan metode *Triglycerides GPO – PAP*, yaitu hidrolisa enzimatis trigliserida diikuti pelepasan gliserol secara kolorimetri. Pengukuran dilakukan Laboratorium Klinik Prodia Surabaya

4.8.4 Pemeriksaan kadar kolesterol LDL

Kolesterol LDL diukur dengan metode *Presipitasi polyvinyl sulphate*, dengan prinsip test: LDL diendapkan dengan penambahan *polyvinyl sulphate* pada sampel. Konsentrasi LDL dikalkulasikan dari pengurangan antara kolesterol total dalam serum dengan kolesterol dalam supernatan setelah sentrifugasi. Pengukuran dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan Daerah Surabaya.

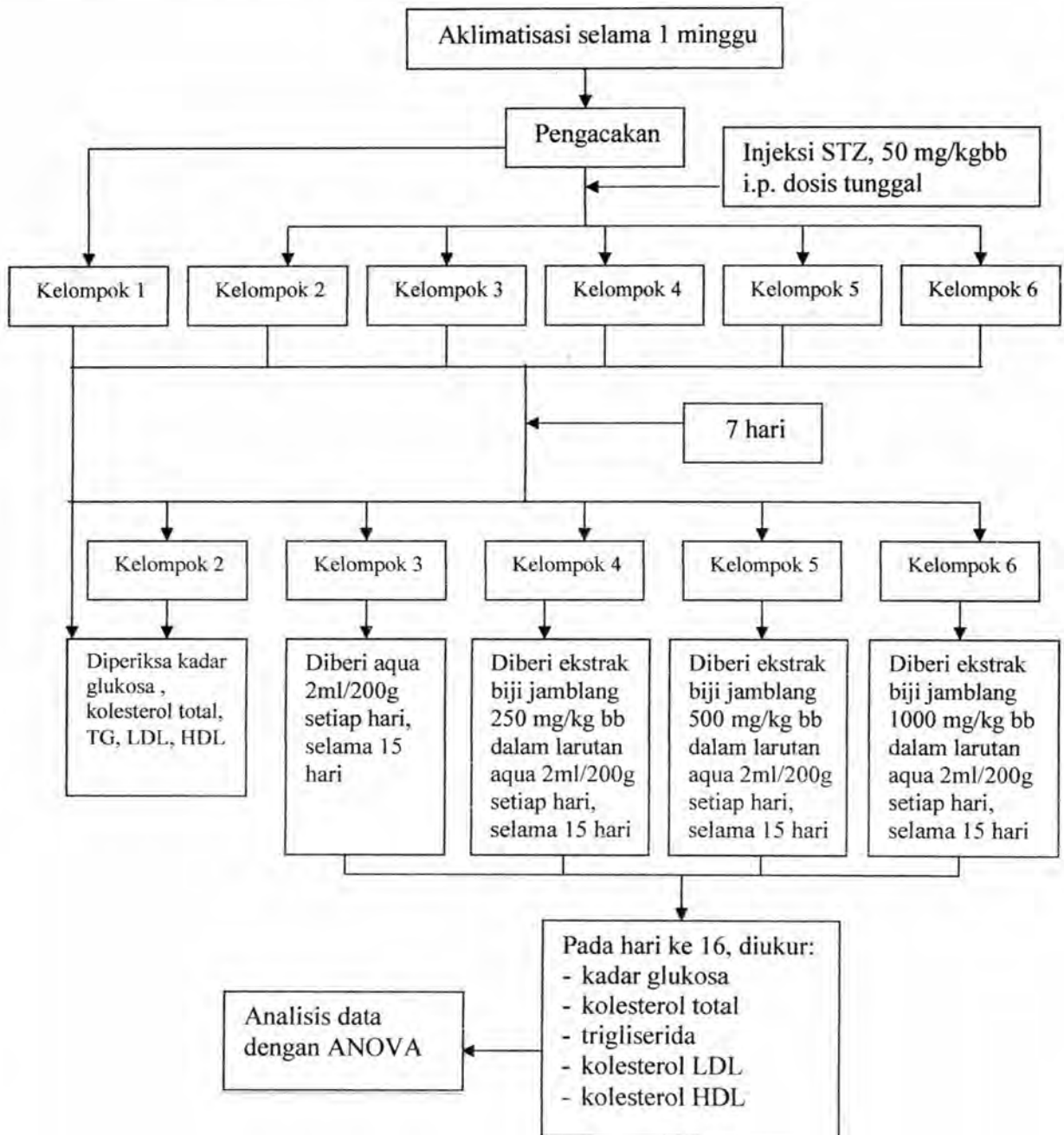
4.8.5 Pemeriksaan kadar kolesterol HDL

Kadar kolesterol diukur dengan metode CHOD-PAP, setelah pengendapan selektif kilomikron, VLDL dan LDL oleh asam fosfotungstat dan Mg^{2+} . Pengukuran dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan Daerah Surabaya.

4.9 Teknik analisis data

Teknik analisis data yang dipakai menggunakan Anova satu arah (dengan asumsi data homogen dan distribusi normal) dengan tingkat kesalahan sebesar 5%. Jika terdapat perbedaan yang bermakna, maka untuk mengetahui beda antar perlakuan dipergunakan uji LSD (*Least Significant Difference*) atau Uji Beda Nyata Terkecil.

4.10 Operasional Penelitian



Gambar 4.1: Prosedur kerja penelitian.

BAB 5**HASIL PENELITIAN**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji jambang terhadap kadar glukosa dan profil lipid pada keadaan Diabetes Melitus. Untuk membuat keadaan Diabetes Melitus pada binatang percobaan, diberikan injeksi streptozotisin dengan dosis tunggal 50 mg/kg BB secara intraperitoneal. Pengamatan keadaan Diabetes Melitus dilakukan pada hari ke 8, sedangkan pengamatan untuk mengetahui pengaruh ekstrak biji jambang terhadap kadar glukosa dan profil lipid dilakukan pada hari ke 16.

5.1 Data Hasil Penelitian Setelah Diinjeksi Sreptozotisin**5.1.1 Data berat badan, kadar glukosa dan profil lipid**

Hasil analisis untuk berat badan awal, berat badan akhir, kadar glukosa, kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL, dan trigliserida serum pada kelompok normal dan kelompok Diabetes Melitus dapat dilihat pada tabel di bawah ini:

Tabel 5.1 Nilai rerata dan simpang baku berat badan awal, berat badan akhir dan variabel tergantung pada dua kelompok

Kelompok		BB Awal (gram)	BB Akhir (gram)	Perub. BB (gram)	Glukosa (mg/dl)	Kolest. Total (mg/dl)	Kolest. LDL (mg/dl)	Kolest. HDL (mg/dl)	TG (mg/dl)
K 1 n = 4	Rerata	116,80	120,30	3,50	138,75	67,25	18,00	37,50	90,25
	Simpang baku	5,20	3,20	2,52	11,50	9,67	2,94	4,50	36,50
K 2 n = 4	Rerata	141,80	137,00	-4,75	520,00	59,00	19,00	34,25	93,00
	Simpang baku	12,00	11,70	2,20	41,50	6,68	4,55	2,99	19,68

5.1.2 Uji normalitas kelompok normal dan Diabetes Melitus

Hasil uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* satu sampel dilakukan untuk berat badan awal, berat badan akhir, kadar glukosa, kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL dan trigliserida serum pada kelompok normal dan kelompok Diabetes Melitus. Besar signifikansi (probabilitas = p) hasil uji normalitas berat badan awal, berat badan akhir dan variabel tergantung pada kelompok normal dan kelompok Diabetes Melitus adalah $p > 0,05$, sehingga data tersebut berdistribusi normal. Hasil uji normalitas penelitian tahap awal selengkapnya dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 5.2 Hasil uji normalitas data

Variabel	Sig.
Perubahan Berat badan	0,903
Kadar glukosa	0,454
Kadar kolesterol total	0,966
Kadar kolesterol LDL	0,985
Kadarkolesterol HDL	0,890
Kadar trigliserida	0,856

5.1.3 Uji homogenitas kelompok normal dan Diabetes Melitus

Untuk mengetahui homogenitas data dilakukan uji *Levene Test* pada variabel kelompok normal dan kelompok Diabetes Melitus. Signifikansi pada data kadar glukosa, kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL adalah $p > 0,05$ sehingga data tersebut homogen, sedangkan trigliserida tidak homogen dengan $p < 0,05$. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel 5.3.

Tabel 5.3 Hasil uji homogenitas data

Variabel	Sig.
Perubahan Berat badan	0,900
Kadar glukosa	0,178
Kadar kolesterol total	0,086
Kadar kolesterol LDL	0,390
Kadarkolesterol HDL	0,516
Kadar trigliserida	0,007

5.1.4 Hasil uji beda berat badan, kadar glukosa dan profil lipid kelompok normal dan Diabetes Melitus

Untuk mengetahui beda variabel perubahan berat badan, kadar glukosa, kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL dan trigliserida dilakukan uji beda antar kelompok normal dan Diabetes Melitus dengan menggunakan *T-Test* dua sampel bebas satu ekor. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel 5.4.

Tabel 5.4 Hasil uji beda variabel tergantung pada kelompok normal dan kelompok diabetes melitus

Variabel dependen	Kelompok		Sig. (p)
	Normal N = 4	Diabetes N = 4	
Perub. BB (Mean \pm SD)	3,5 \pm 2,52	-4,75 \pm ,2	0.002
Glukosa (Mean \pm SD)	138,75 \pm 11,5	520 \pm 41,5	0,000
Kolesterol total (Mean \pm SD)	67,25 \pm 9,67	59 \pm 6,68	0,105
Kolesterol LDL (Mean \pm SD)	18 \pm 2,94	19 \pm 4,55	0,363
Kolesterol HDL (Mean \pm SD)	37,5 \pm 4,5	34,25 \pm 2,99	0,138
TG (Mean \pm SD)	90,25 \pm 36,5	93 \pm 19,68	0,450

Hasil uji beda dengan *T-test* dua sampel bebas penelitian tahap awal selengkapnya dapat dilihat pada lampiran.

Dari tabel tersebut 5.4 tampak bahwa kadar glukosa kelompok normal berbeda secara bermakna dengan kelompok diabetes melitus dengan $p < 0,05$, sedangkan kadar kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL dan trigliserida tidak berbeda secara bermakna dengan kelompok diabetes dengan $p > 0,05$.

5.2 Data Hasil Penelitian Setelah Pemberian Ekstrak Biji Jamblang

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variabel bebas yaitu pemberian ekstrak biji jamblang terhadap variabel tergantung yaitu kadar glukosa, kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL dan trigliserida serum pada keadaan Diabetes Melitus.

5.2.1 Data berat badan, kadar glukosa dan profil lipid kelompok kontrol dan perlakuan

Hasil analisis berat badan awal, berat badan akhir, perubahan berat badan, kadar glukosa, kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL dan trigliserida serum antara kelompok kontrol, kelompok perlakuan pemberian ekstrak biji jamblang dengan dosis 250 mg/kg bb, 500 mg/kg bb dan 1000 mg/kg bb dapat dilihat pada tabel 5.5

Tabel 5.5 Nilai rerata dan simpang baku berat badan awal, berat badan akhir dan variabel tergantung pada dua kelompok

Kelompok		BB Awal (gram)	BB Akhir (gram)	Perub. BB (gram)	Gluk (mg/dl)	Kolest. Total (mg/dl)	Kolest. LDL (mg/dl)	Kolest. HDL (mg/dl)	TG (mg/dl)	Rasio k. total/HDL
K positif + aqua n = 4	Rerata	133,75	126,00	-7,75	351,75	59,50	12,00	37,50	60,75	1,62
	Simpang baku	8,42	7,53	3,50	62,43	5,26	2,71	5,45	22,78	0,40
K ekstrak 250 mg n = 4	Rerata	128,75	137,75	9,00	300,75	57,00	11,50	40,75	58,50	1,40
	Simpang baku	7,14	7,80	2,16	50,14	6,68	1,29	6,34	14,66	7E-02
K ekstrak 500 mg n = 4	Rerata	128,00	142,00	14,00	189,5	60,75	11,50	43,75	58,50	1,39
	Simpang baku	6,38	9,93	10,23	73,24	4,27	1,29	2,99	23,70	1,5E-02
K. ekstrak 1000 mg n = 4	Rerata	134,75	143,25	8,50	159,00	54,00	11,50	44,25	49,25	1,22
	Simpang baku	6,50	8,42	3,42	68,04	2,45	1,92	3,59	19,57	0,13

5.2.2 Uji Normalitas kelompok kontrol dan perlakuan

Hasil uji normalitas *Kolmogorov –Smirnov* satu sampel dilakukan untuk perubahan berat badan awal dan akhir serta kadar glukosa, kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL dan trigliserida pada kelompok kontrol positif, ekstrak biji jambang 250 mg/kg bb, 500 mg/kg bb, 1000 mg/kg bb, dan untuk semua kelompok tersebut berdistribusi normal ($p > 0,05$), seperti yang tampak pada tabel 5.6

Tabel 5.6 Hasil uji normalitas data

Variabel	Sig.
Perubahan Berat badan	0,466
Kadar glukosa	0,874
Kadar kolesterol total	0,963
Kadar kolesterol LDL	0,510
Kadarkolesterol HDL	0,896
Kadar trigliserida	0,997

5.2.2 Uji Homogenitas kelompok kontrol dan perlakuan

Untuk mengetahui homogenitas data dilakukan uji *Levene Test* pada variabel tergantung kelompok kontrol positif, dan kelompok ekstrak biji jambang dosis 250 mg, 500 mg, 1000 mg Signifikansi pada data kadar glukosa, kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL dan trigliserida adalah $p > 0,05$ sehingga data tersebut homogen. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

5.7 Tabel hasil uji homogenitas

Variabel	Sig.
Kadar glukosa	0,837
Kadar kolesterol total	0,433
Kadar kolesterol LDL	0,387
Kadar kolesterol HDL	0,702
Kadar trigliserida	0,695

Pada penelitian ini diperoleh data kadar glukosa, kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL dan trigliserida berdistribusi normal dan homogen sehingga dapat dilanjutkan pada uji Anova.

5.2.3 Hasil Analisis Varians

Untuk mengetahui variabel tergantung apa saja yang berbeda pada seluruh anggota kelompok akan diuji menggunakan uji statistik analisis varians (Anova). Hasil uji Anova untuk seluruh kelompok terhadap variabel dependen seperti pada tabel 5.8.

Tabel 5.8 Hasil uji beda dengan anova variabel tergantung pada kelompok kontrol positif dan ekstrak biji jamblang

Variabel tergantung	F _{hitung}	Sig.
Kadar glukosa	8,085	0,003*
Kolesterol total	1,473	0,271
Kolesterol LDL	0,070	0,975
Kolesterol HDL	1,696	0,221
Trigliserida	0,249	0,860

Tanda * menunjukkan berbeda bermakna

Dari tabel diatas tampak bahwa kadar trigliserida, kolesterol total, kolesterol LDL dan kolesterol HDL tidak berbeda secara bermakna atau sama yaitu $p > 0,05$ antar kelompok kontrol positif, ekstrak biji jamblang 250 mg, 500 mg, 1000 mg. Sedangkan kadar glukosa darah berbeda secara bermakna dengan $p < 0,05$ antar kelompok kontrol positif, dengan ekstrak biji jamblang 500 mg, 1000 mg. Hasil selengkapnya dapat dilihat di lampiran.

5.2.4 Hasil Uji LSD

Untuk mengetahui antar kelompok mana yang berbeda, dilanjutkan dengan uji LSD. Pada penelitian ini uji LSD hanya dilakukan pada variabel kadar glukosa karena dari hasil uji beda diperoleh hasil perbedaan yang bermakna. Sedangkan kadar kolesterol total, trigliserida, kolesterol LDL dan kolesterol HDL tidak dilakukan uji LSD karena diperoleh hasil yang tidak berbeda secara bermakna. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel 5.9.

Tabel 5.9 Hasil uji beda dengan LSD pada variabel kadar glukosa

Variabel Tergantung	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Rerata Perbedaan (I - J)	Standart Error	Sig.
Glukosa	Kontrol positif (K 3) N = 4	Ekstrak 250 mg	51,00	45,284	0,282
		Ekstrak 500 mg	162,25*	45,284	0,004
		Ekstrak 1000 mg	192,75*	45,284	0,001
	Ekstrak 250 mg (K 4) N = 4	Kontrol positif	-51,00	45,284	0,282
		Ekstrak 500 mg	111,25*	45,284	0,030
		Ekstrak 1000 mg	141,75*	45,284	0,009
	Ekstrak 500 mg (K 5) N = 4	Kontrol positif	-162,25*	45,284	0,004
		Ekstrak 250 mg	-111,25*	45,284	0,030
		Ekstrak 1000 mg	30,50	45,284	0,513
	Ekstrak 1000 mg (K 6) N = 4	Kontrol positif	-192,75*	45,284	0,001
		Ekstrak 250 mg	-141,75*	45,284	0,009
		Ekstrak 500 mg	-30,50	45,284	0,513

Berdasarkan tabel 5.5, terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) untuk kadar glukosa antara kelompok kontrol positif dengan kelompok ekstrak biji jambang dosis 500 mg/kg bb ($p = 0,004$) dan 1000 mg/kg bb ($p = 0,001$), sedangkan kelompok ekstrak 250 mg/kg bb tidak berbeda secara bermakna ($p = 0,282$). Dari tabel tersebut juga dapat dilihat perbedaan yang bermakna antara kelompok ekstrak 250 mg/kg bb dengan kelompok ekstrak 500 mg/kg bb ($p = 0,030$) dan kelompok ekstrak 1000 mg/kg bb ($p = 0,009$), tetapi tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok ekstrak 500 mg/kg bb dengan kelompok ekstrak 1000 mg/kg bb ($p = 0,513$).

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian ekstrak biji jambang terhadap penurunan kadar glukosa serum, kolesterol total, kolesterol LDL, trigliserida dan peningkatan kolesterol HDL pada keadaan Diabetes Melitus. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris yang memenuhi kriteria sebagai penelitian eksperimen murni (*true experiment*) yaitu kriteria perlakuan, kelompok perlakuan, kelompok kontrol, replikasi dan randomisasi (Zainuddin, 1995).

Rancangan penelitian yang digunakan adalah acak lengkap, karena penelitian dilakukan dengan membagi hewan coba yang sudah mengalami Diabetes Melitus menjadi lima kelompok dengan jumlah yang sama secara acak. Penentuan keadaan Diabetes Melitus ditetapkan hari kedelapan setelah diinjeksikan STZ dengan dosis 50 mg/kg bb, dengan kriteria kadar glukosa serum puasa > 250 mg/dl (Sridhar *et al.*, 2005; Rajasekaran *et al.*, 2005). Dengan dosis ini diduga telah terjadi Diabetes Melitus tipe 2 dengan alasan, kelompok kontrol diabetes dapat tetap hidup sampai hari ke 15 dan kelompok yang diterapi dengan obat sulfonilurea dapat berespon dengan baik, walaupun tanpa diberikan insulin (Sridar *et al.*, 2005). Pada penelitian ini tikus putih jantan yang digunakan sebagai model Diabetes Melitus, juga dapat bertahan hidup sampai hari ke 15.

Pengukuran kadar glukosa, kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL, dan trigliserida serum dilakukan dengan mengambil darah secara intrakardial. Tikus dipuasakan terlebih dahulu selama lebih kurang delapan jam dan

hanya diberikan minum. Kemudian dilakukan pembiusan dengan menggunakan eter sampai tikus tidak bergerak lagi. Setelah darah diambil tikus dibius sampai mati dan dikuburkan.

6.1 Hasil Penelitian Setelah Diinjeksi Streptozotosin

6.1.1. Uji normalitas data

Uji normalitas bertujuan untuk mengetahui apakah distribusi sebuah data mengikuti atau mendekati distribusi normal, yakni distribusi data dengan bentuk lonceng (*bell shaped*) (Santoso, 2002). Uji normalitas ini dilakukan pada kelompok normal maupun kelompok Diabetes Melitus untuk variabel tergantung yaitu kadar glukosa serum, kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL, trigliserida, perubahan berat badan awal sebelum mendapatkan perlakuan dan berat badan akhir sesudah mendapatkan perlakuan yaitu diinjeksi STZ.

Pengukuran berat badan dimaksudkan untuk mengetahui perkembangan hewan coba dan perubahan berat badan, karena salah satu tanda dari Diabetes Melitus adalah adanya penurunan berat badan.

Uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* satu sampel. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa variabel kadar glukosa, kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL, trigliserida serum, variabel berat badan awal dan berat badan akhir untuk kelompok normal dan kelompok Diabetes Melitus berdistribusi normal ($p > 0,05$).

6.1.2. Pengaruh penyuntikan streptozotosin

Streptozotosin (STZ) adalah senyawa yang disintesis oleh *streptomyces achromogenes* yang dapat digunakan untuk menginduksi Diabetes Melitus tipe 1 dan tipe 2 pada hewan coba (Arulmozhi, 2004). Dosis STZ yang digunakan untuk menginduksi Diabetes Melitus tipe 1 adalah 40 – 60 mg/kg bb tikus yang diberikan secara berulang (*multiple low dose*) untuk menimbulkan mekanisme imun (Szudelski, 2001). Dosis STZ yang digunakan untuk menginduksi Diabetes Melitus tipe 2 pada penelitian ini adalah dosis tunggal 50 mg/kg bb diberikan secara intraperitoneal. Dengan dosis ini menurut Sridar *et al.*, (2005) telah terjadi Diabetes Melitus tipe 2 dengan alasan, kelompok kontrol diabetes dapat tetap hidup sampai hari ke 15 dan kelompok yang diterapi dengan obat sulfonilurea dapat berespon dengan baik, walaupun tanpa diberikan insulin. Dosis STZ yang digunakan untuk menginduksi

Menurut Srinivasan dan Ramarao, (2007) dosis yang digunakan untuk menginduksi Diabetes Melitus tipe 2 bervariasi sesuai dengan model yang digunakan. Untuk tikus digunakan dosis 35 – 65 mg/kg bb secara intravena atau intraperitoneal.

Kondisi Diabetes Melitus ditentukan pada hari ke 8 setelah injeksi STZ, yaitu dicirikan dengan peningkatan kadar glukosa darah puasa > 250 mg/dl (Ravi *et al.*, 2004, Rajasekaran *et al.*, 2005). Pada penelitian ini rerata kadar glukosa serum puasa pada kelompok yang diinjeksi STZ adalah 520 mg/dl sedangkan pada kelompok normal adalah 138,75 mg/dl.

Uji beda dengan *T-test* dua sampel bebas satu ekor didapatkan kadar glukosa serum kelompok normal dengan kelompok diabetes berbeda secara

bermakna ($p = 0,000$). Dengan hasil tersebut dapat diasumsikan bahwa hewan coba yang diberikan injeksi STZ 50 mg/kg bb pada semua kelompok telah mengalami Diabetes Melitus yaitu kadar glukosa darah telah di atas 250 mg/dl dengan rerata 520 mg/dl dan lebih tinggi secara bermakna dari kelompok yang tidak diinjeksi dengan STZ.

Rerata kadar kolesterol total pada kelompok yang tidak diinjeksi STZ adalah 67,25 mg/dl, sedangkan pada kelompok yang diinjeksi STZ adalah 59,00 mg/dl. Terdapat perbedaan rerata 8,25 mg/dl lebih tinggi pada kelompok yang tidak diinjeksi. Rerata kadar trigliserida pada kelompok yang tidak diinjeksi STZ adalah 90,25 mg/dl, sedangkan pada kelompok yang diinjeksi STZ adalah 93,00. Terdapat perbedaan rerata 2,75 mg/dl, walaupun tidak terdapat perbedaan yang bermakna $p = 0,899$. Rerata kadar kolesterol LDL pada kelompok yang tidak diinjeksi STZ adalah 18,00 mg/dl, sedangkan pada kelompok yang diinjeksi STZ adalah 19,00 mg/dl. Terdapat perbedaan rerata antara kelompok yang tidak diinjeksi STZ dengan kelompok yang diinjeksi STZ sebesar 1,00 mg/dl, walaupun perbedaan rerata ini tidak bermakna dengan $p = 0,725$. Rerata kadar kolesterol HDL pada kelompok yang tidak diinjeksi STZ adalah 37,5 mg/dl, sedangkan kelompok yang tidak diinjeksi STZ adalah 34,25 mg/dl. Terdapat penurunan HDL pada kelompok yang diinjeksi STZ walaupun penurunan ini tidak bermakna dengan $p = 0,275$.

Pada kelompok yang diinjeksi STZ telah mengalami peningkatan kadar glukosa darah atau hiperglikemia, tetapi tidak diikuti oleh perubahan profil lemak yaitu peningkatan kolesterol total, kolesterol LDL, trigliserida dan penurunan kolesterol HDL yang disebut sebagai dislipidemia atau hiperlipidemia yang lazim terdapat pada penderita Diabetes Melitus (Suparman, 2003). Hal ini disebabkan

karena hiperglikemia yang terjadi adalah akut, sehingga belum terjadi dislipidemia. Keadaan dislipidemia terjadi pada Diabetes Melitus kronis, yaitu sudah menderita Diabetes Melitus selama bertahun-tahun, dan merupakan komplikasi kronis baik pada Diabetes Melitus tipe 1 maupun tipe 2 (Suparman, 2003).

Pada penelitian terdahulu dengan menggunakan tikus putih jantan yang diinduksi aloksan dosis tunggal 150 mg/kg bb, setelah dua minggu menunjukkan perbedaan profil lemak antara kelompok yang diinjeksi aloksan dengan kelompok yang tidak diinjeksi (Momo *et al.*, 2006). Sedangkan penelitian yang dilakukan Cattopadhyay *et al.*, (2005) dengan menggunakan tikus putih jantan yang diinduksi STZ dosis tunggal 50 mg/kg bb juga menunjukkan perbedaan profil lemak antara kelompok yang tidak diinjeksi dan kelompok yang diinjeksi STZ setelah hari ke tujuh. Pada penelitian ini belum tampak perbedaan profil lemak serum antara kelompok yang tidak diinjeksi STZ dan kelompok yang diinjeksi STZ. Hal ini kemungkinan disebabkan karena genetik tikus yang berbeda, kontrol makanan yang kurang baik pada hewan coba dan iklim yang berbeda. Tikus yang dibuat Diabetes Melitus harus diletakkan pada kandang yang berbeda untuk masing-masing tikus, agar memudahkan pengontrolan makanan yang dikonsumsi oleh masing-masing tikus.

6.2 Hasil Penelitian Setelah Pemberian Ekstrak Biji Jamblang

6.2.1 Uji normalitas dan homogenitas data

Uji normalitas ini dilakukan pada kelompok kontrol maupun kelompok ekstrak biji jamblang dosis 250 mg/kg bb, 500 mg/kg bb, dan 1000 mg/kg bb yaitu kadar glukosa, kolesterol total, trigliserida, kolesterol LDL, dan kolesterol HDL.

serum, variabel berat badan awal sebelum mendapatkan perlakuan dan berat badan akhir sesudah mendapatkan perlakuan yaitu setelah diinjeksi STZ.

Uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* satu sampel. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa variabel kadar glukosa, trigliserida, kolesterol total, kolesterol LDL, dan kolesterol HDL serum, variabel berat badan awal dan berat badan akhir untuk kelompok kontrol dan kelompok ekstrak biji jambang dosis 250 mg/kg bb, 500 mg/kg bb dan 1000 mg/kg bb berdistribusi normal ($p > 0,05$).

Uji homogenitas data dilakukan dengan menggunakan uji *Levene* dengan hasil kadar glukosa, kolesterol total, trigliserida, kolesterol LDL dan kolesterol HDL adalah homogen dengan $p > 0,05$. Karena data pada penelitian ini adalah berdistribusi normal dan homogen, maka memenuhi syarat untuk dilakukan uji Anova.

6.2.2 Pengaruh pemberian ekstrak biji jambang terhadap kadar glukosa serum

Uji analisis varians antar kelompok terhadap kadar glukosa serum menunjukkan hasil berbeda secara bermakna $p = 0,003$. Uji LSD juga menunjukkan kelompok kontrol positif berbeda secara bermakna dengan kelompok ekstrak biji jambang 500 mg/kg dan 1000 mg/kg bb dan tidak berbeda bermakna dengan dosis 250 mg.

Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak biji jambang dengan dosis 500 dan 1000 mg/kg bb berpengaruh terhadap penurunan kadar glukosa serum. Hal ini disebabkan karena biji jambang selama ini diduga mengandung kromium dan senyawa polifenol tanin.

Menurut *dietary reference ingestion* (DRI), nilai pencernaan yang adekuat dari kromium adalah 25 - 35 mcg per hari untuk orang dewasa laki-laki maupun perempuan (Gomes, 2005). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Indrayan *et al.*, (2005) dalam 1 gram biji jambang terkandung 0,003 % kromium atau 30 mcg kromium. Ekstrak biji jambang dosis 250 mg mengandung 7,5 mcg kromium, dosis 500 mg mengandung kromium 15 mcg dan pada dosis 1000 mg mengandung kromium tertinggi yaitu 30 mcg. Penderita Diabetes Melitus memerlukan pemberian tambahan suplemen kromium yaitu 125 - 200 mcg (Gomes *et al.*, 2005), sehingga dosis yang digunakan pada tikus adalah 2,25 – 3,6 mcg.

Antara dosis 500 mg dan 1000 mg tidak terdapat perbedaan bermakna dalam menurunkan kadar glukosa serum. Hal ini kemungkinan karena mekanisme kerja kromium dan tanin mempunyai kemampuan meningkatkan kepekaan reseptor insulin. Jika reseptor kromium atau tanin sudah berikatan dengan kromium atau tanin, maka akan terjadi transduksi sinyal pos reseptor. Sehingga dengan dosis 500 mg, kromium dan tanin sudah mampu berikatan dengan reseptor kromium atau tanin secara maksimal untuk meningkatkan kepekaan reseptor insulin dalam berikatan dengan insulin, yang menyebabkan transduksi sinyal.

Menurut penelitian yang dilakukan Wang *et al.*, (2005), menunjukkan mekanisme kromium dalam meningkatkan kepekaan reseptor insulin melalui peningkatan fosforilasi pada IRS 1 dan PI-3 kinase dalam otot skeletal tikus yang dibuat menderita obesitas dan mengalami resistensi insulin. Hal ini menyebabkan translokasi GLUT 4 otot skeletal untuk mengangkut glukosa. Dosis kromium yang digunakan adalah 80 mcg/kg bb/hari dan diberikan selama 3 bulan.

Selain kromium biji jambang juga mengandung 6-19% tanin (asam tanat) yang mempunyai kemampuan untuk meningkatkan kepekaan reseptor insulin. Asam tanat menyebabkan fosforilasi reseptor insulin yang mengakibatkan translokasi transporter glukosa 4 (GLUT 4) (Liu *et al.*, 2004).

Kromium dan tanin bekerja dengan meningkatkan kepekaan reseptor insulin, sehingga insulin yang beredar dalam sirkulasi dapat dengan mudah berikatan dengan reseptor insulin. Selanjutnya terjadi mobilisasi glukosa transporter (GLUT 4) ke permukaan membran sel untuk mengangkut glukosa masuk ke dalam sel terutama sel adiposa, akibatnya glukosa dalam darah akan berkurang (Gomes *et al.*, 2005; Linder *et al.*, 1992; Dey *et al.*, 2002; Yeh *et al.*, 2003; Hagerman, 2002; Liu *et al.*, 2004).

Untuk mengetahui mekanisme kerja kromium dan tanin sebagai senyawa yang dapat meningkatkan aktifitas reseptor insulin, dapat dilakukan penelitian lanjutan dengan memeriksa kadar insulin setelah makan pada hewan coba yang dibuat menderita Diabetes Melitus. Pada Diabetes Melitus tipe 2 akan mengalami penurunan aktivitas reseptor insulin, sehingga menyebabkan peningkatan kadar insulin terutama setelah makan.

Kadar glukosa darah yang meningkat dapat bereaksi dengan hemoglobin membentuk glikosilasi hemoglobin (HbA_{1c}). HbA_{1c} digunakan sebagai suatu tanda untuk memperkirakan tingkat glikosilasi protein yang terjadi pada Diabetes Melitus (Ravi *et al.*, 2004). Biji jambang dapat menurunkan kadar glukosa darah, sehingga perlu dilakukan penelitian untuk membuktikan apakah biji jambang juga mempengaruhi glikosilasi HbA_{1c}.

6.2.3. Pengaruh pemberian ekstrak biji jambang terhadap kolesterol total

Dari hasil uji statistik analisis varians terhadap kolesterol total tidak ada perbedaan yang bermakna antar kelompok kontrol positif dan kelompok ekstrak 250, 500 dan 1000 mg/kg bb dengan $p = 0,271$, walaupun terdapat penurunan pada dosis 250 mg/kg bb dan 1000 mg/kg bb. Hasil uji statistik diatas menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji jambang dosis 250, 500, dan 1000 mg/kg bb tidak berpengaruh terhadap penurunan kadar kolesterol total. Pada penelitian yang dilakukan Safdar *et al.*, (2006) yang menggunakan buah jambang sebagai antidiabetik dan antihiperlipidemik pada pasien Diabetes Melitus tipe 2 selama 12 hari, diperoleh hasil yang tidak ada pengaruh terhadap penurunan profil lemak pasien yang mengalami Diabetes Melitus tipe 2.

Kolesterol total merupakan penjumlahan semua lipoprotein serum yang meliputi kilomikron, kolesterol VLDL, kolesterol LDL dan kolesterol HDL. Diabetes Melitus merupakan salah satu faktor yang menyebabkan hiperkolesterolemia. Hiperkolesterolemia merupakan komplikasi kronis yang terjadi setelah penderita mengalami Diabetes Melitus dalam waktu bertahun-tahun. Pengobatan hiperlipidemia juga membutuhkan waktu yang cukup lama (Suparman, 2003).

Salah satu terapi medikasi yang digunakan untuk mengobati hiperkolesterolemia adalah dari golongan statin. Obat ini menghambat kerja enzim HMG Ko-A reduktase hingga sintesis kolesterol di hati berkurang. Hal ini menyebabkan mekanisme umpan balik terhadap pembentukan reseptor LDL dengan akibat jumlah reseptor akan meningkat, sehingga LDL akan lebih banyak

yang mengalami internalisasi ke dalam hati kemudian diekskresi melalui empedu (Suparman, 2003).

Biji jambang mengandung kromium yang diduga mempunyai mekanisme menurunkan kadar kolesterol yang hampir sama dengan obat golongan statin yaitu menghambat kerja enzim HMG Ko-A reduktase yang merupakan enzim kunci dalam sintesis kolesterol (Indrayan *et al.*, 2005; Gomes *et al.*, 2005).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Wang *et al.*, (2005), pada tikus yang dibuat menderita obesitas dan diberikan kromium 80 mcg/kg bb/hari selama 3 bulan menunjukkan penurunan kolesterol total secara bermakna.

Sehingga pada penelitian ini kandungan kromium pada ekstrak biji jambang dengan dosis 250, 500, dan 1000 mg/kg bb yang diberikan selama 15 hari belum menunjukkan pengaruh penurunan kadar kolesterol, kemungkinan karena waktu penelitian yang kurang lama dan dosis kromium yang terkandung dalam biji jambang masih kurang yaitu 0,135, 0,27 dan 0,54/kg bb tikus.

6.2.4. Pengaruh pemberian ekstrak biji jambang terhadap kadar trigliserida

Trigliserida merupakan ester dari alkohol gliserol dengan tiga molekul asam lemak yang berfungsi sebagai simpanan lemak pada jaringan lemak.

Uji analisis varians antar kelompok terhadap kadar trigliserida pada penelitian ini menunjukkan hasil tidak berbeda secara bermakna $p = 0,993$, walaupun terjadi penurunan pada dosis 250 mg/kg bb, 500 mg/kg bb dan 1000 mg/kg bb. Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak biji jambang dengan dosis 250, 500 dan 1000 mg/kg bb tidak berpengaruh terhadap penurunan kadar trigliserida serum.

Hipertriglisieridemia merupakan salah satu komplikasi kronis yang terjadi pada penderita Diabetes Melitus. Sama halnya dengan hiperkolesterolemia, hipertriglisieridemia juga memerlukan pengobatan dalam jangka panjang (Suparman, 2003).

Secara normal triasilgliserol tidak terakumulasi dalam hati, tetapi akan diangkut dari hati dalam bentuk VLDL. Pada Diabetes Melitus kadar asam lemak bebas di dalam darah akan meningkat, sehingga lebih banyak lagi asam lemak bebas yang ditarik ke dalam hati. Pada keadaan ini lipogenesis akan terhambat sehingga asam lemak bebas merupakan sumber utama asam lemak triasilgliserol di hati dan VLDL (Murray *et al.*, 2003).

Belum diketahui secara pasti mekanisme penurunan trigliserida dengan menggunakan ekstrak biji jambang. Pada penelitian yang dilakukan oleh Dey *et al.*, (2002) yang memberikan kromium pikolinat 200 mcg/hari pada penderita diabetes tipe 2 selama 6 bulan, yang diperoleh hasil bahwa terjadi penurunan trigliserida tetapi tidak berbeda secara bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Dosis ini diperkirakan lebih kecil untuk penurunan trigliserida tetapi efektif untuk menurunkan kadar glukosa. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Wang *et al.*, (2005), pada tikus yang dibuat menderita obesitas dan diberikan kromium 80 mcg/kg BB/hari selama 3 bulan menunjukkan penurunan trigliserida secara bermakna.

Pada penelitian ini belum menunjukkan adanya penurunan trigliserida secara bermakna. Hal ini kemungkinan karena dosis kromium yang terkandung dalam biji jambang kurang dan waktu pemberian yang kurang lama. Sedangkan dari dua penelitian terdahulu dengan menggunakan kromium dosis yang besar dan

waktu yang cukup lama diperoleh hasil yang tidak konsisten, sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui keefektifan dosis dan waktu pemberian kromium.

Aktifitas reseptor insulin yang meningkat menyebabkan peningkatan pengikatan antara insulin dengan reseptor insulin yang selanjutnya menyebabkan translokasi GLUT 4 pada permukaan membran sel yang mengakibatkan pengangkutan glukosa menjadi lebih optimal, sehingga terjadi penurunan kadar glukosa dalam darah. Penggunaan glukosa yang meningkat oleh jaringan dan penurunan kadar insulin mengakibatkan penurunan mobilisasi lemak dari jaringan. Hal ini akan menurunkan kadar asam lemak bebas dalam darah. Asam lemak bebas merupakan bahan bakal sintesis trigliserida di hati.

6.2.5. Pengaruh pemberian ekstrak biji jambang terhadap kadar kolesterol LDL

Kolesterol LDL adalah kolesterol yang mengangkut kolesterol yang terdapat dalam sirkulasi ke jaringan seluruh tubuh termasuk pembuluh darah. Tingginya kadar kolesterol LDL merupakan faktor risiko timbulnya aterosklerosis pada penderita Diabetes Melitus.

Uji analisis varians antar kelompok terhadap kadar kolesterol LDL menunjukkan hasil tidak berbeda secara bermakna $p = 0,975$, walaupun terjadi penurunan pada dosis 250 mg/kg bb, 500 mg/kg bb, 1000 mg/kg bb. Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak biji jambang dengan dosis 250, 500 dan 1000 mg/kg bb tidak berpengaruh terhadap penurunan kadar kolesterol LDL. Menurut *office of dietary supplement*, dosis kromium yang

dibutuhkan untuk menurunkan kadar kolesterol LDL adalah 125 mcg/hari, yang jika dikonversi untuk tikus adalah 2,25 mcg.

Ekstrak biji jambang mengandung kuersetin (3',4'-dihidroksiflavonol) yang merupakan senyawa flavonoid dari kelompok flavonol. Kuersetin berperan dalam menghambat reaksi oksidasi LDL. Selain itu kuersetin juga berperan sebagai antioksidan pembersih produk oksidasi LDL dan lipid yang dapat menyebabkan gangguan pada dinding pembuluh darah (Posman, 2004). Peningkatan kadar kolesterol LDL merupakan komplikasi kronis pada Diabetes Melitus dan terjadi apabila penderita Diabetes Melitus tidak terkontrol dengan baik.

Selain kuersetin, ekstrak biji jambang juga mengandung kromium yang berperan menghambat kerja enzim HMG Ko-A reduktase sehingga sintesis kolesterol dalam hati berkurang. Hal ini menimbulkan mekanisme umpan balik terhadap pembentukan reseptor LDL dengan akibat jumlah reseptor akan meningkat sehingga LDL akan lebih banyak yang mengalami internalisasi ke dalam hati untuk kemudian diekskresikan melalui hati (Gomes *et al.*, 2005).

Pada penelitian ini tidak terjadi penurunan kadar kolesterol LDL. Hal ini kemungkinan karena waktu perlakuan pemberian ekstrak biji jambang tidak cukup lama, sehingga kemungkinan efek dari kuersetin sebagai pembersih LDL teroksidasi belum tampak dan pengaruh kromium juga belum tampak.

6.2.6. Pengaruh pemberian ekstrak biji jambang terhadap kadar kolesterol HDL

HDL merupakan lipoprotein yang kaya kolesterol dan berperan dalam pengeluaran kolesterol dari jaringan serta pada metabolisme jenis lipoprotein yang

lain. Siklus HDL merupakan serangkaian proses yang menjelaskan pengangkutan kolesterol dari jaringan ekstrahepatik menuju ke hati, yang dikenal sebagai pengangkutan balik kolesterol. Konsentrasi HDL berhubungan secara bermakna dengan insiden aterosklerosis koroner, dan keadaan ini mungkin terjadi karena konsentrasi HDL mencerminkan efisiensi pembersihan kolesterol dari jaringan.

Uji analisis varians antar kelompok terhadap kadar kolesterol HDL menunjukkan hasil tidak berbeda secara bermakna $p = 0,276$, walaupun terjadi peningkatan pada dosis 250 mg/kg bb, 500 mg/kg bb dan 1000 mg/kg bb.

Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak biji jambang dengan dosis 250, 500 dan 1000 mg/kg bb tidak berpengaruh terhadap peningkatan kadar kolesterol HDL.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Wang *et al.*, (2005), pada tikus yang dibuat obesitas dan diberikan kromium 80 mcg/kg BB/hari selama 3 bulan menunjukkan hasil penurunan secara bermakna pada rasio kolesterol total dibanding dengan kolesterol HDL. Penurunan rasio ini menunjukkan terjadi penurunan kadar kolesterol total dan peningkatan kadar kolesterol HDL. Pada penelitian ini rasio kolesterol total dibanding dengan kolesterol HDL menunjukkan hasil tidak berbeda secara bermakna.

Mekanisme peningkatan kolesterol HDL dengan pemberian kromium masih belum jelas. Hal ini kemungkinan karena peningkatan aktifitas insulin akan meningkatkan aktifitas enzim lipoprotein lipase yang menyebabkan peningkatan hidrolisis trigliserida VLDL, sehingga pertukaran trigliserida VLDL ke HDL oleh CETP menurun. Dengan demikian pembentukan *small dense* HDL juga menurun, yang berakibat kadar HDL akan meningkat.

Tidak terjadinya peningkatan kadar kolesterol HDL pada kelompok yang diberikan ekstrak biji jambang pada penelitian ini adalah kemungkinan karena waktu penelitian yang kurang lama dan dosis ekstrak biji jambang yang kurang.

Pada penelitian terdahulu dengan menggunakan tikus putih jantan yang diinduksi aloksan dosis tunggal 150 mg/kg bb, setelah diberi *laportea ovalifolia* selama dua minggu menunjukkan perbedaan profil lemak (kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL dan trigliserida serum) antara kelompok yang diinjeksi aloksan dengan kelompok yang tidak diinjeksi (Momo *et al.*, 2006). Sedangkan penelitian yang dilakukan Cattopadhyay *et al.*, (2005) dengan menggunakan tikus putih jantan yang diinduksi STZ dosis tunggal 50 mg/kg bb juga menunjukkan perbedaan profil lemak antara kelompok yang tidak diinjeksi dan kelompok yang diinjeksi STZ setelah hari ke tujuh setelah diberi ekstrak daun *azadirachta indica*.

BAB 7**PENUTUP****7.1 Kesimpulan**

- 7.1.1 Pemberian ekstrak biji jambang dengan dosis 250 mg/kg bb tidak menurunkan kadar glukosa serum, sedangkan dosis 500 mg/kg bb dan 1000 mg/kg bb dapat menurunkan kadar glukosa serum pada tikus putih jantan yang diinjeksi streptozotisin dosis tunggal 50 mg/kg bb secara intraperitoneal.
- 7.1.2 Pemberian ekstrak biji jambang dengan dosis 250 mg/kg bb, 500 mg/kg bb dan 1000 mg/kg bb tidak menurunkan kadar kolesterol total serum tikus putih jantan yang diinduksi streptozotisin dosis tunggal 50 mg/kg bb secara intraperitoneal.
- 7.1.3 Pemberian ekstrak biji jambang dengan dosis 250 mg/kg BB, 500 mg/kg bb dan 1000 mg/kg bb tidak menurunkan kadar kolesterol LDL serum tikus putih jantan yang diinduksi streptozotisin dosis tunggal 50 mg/kg bb secara intraperitoneal.
- 7.1.4 Pemberian ekstrak biji jambang dengan dosis 250 mg/kg bb, 500 mg/kg bb dan 1000 mg/kg bb tidak meningkatkan kadar kolesterol HDL serum tikus putih jantan yang diinduksi streptozotisin dosis tunggal 50 mg/kg bb secara intraperitoneal.

7.1.5 Pemberian ekstrak biji jambang dengan dosis 250 mg/kg bb, 500 mg/kg bb dan 1000 mg/kg bb tidak menurunkan kadar trigliserida serum tikus putih jantan yang diinduksi streptozotosin dosis tunggal 50 mg/kg bb secara intraperitoneal.

7.2 Saran

7.2.1 Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh ekstrak biji jambang terhadap kadar glukosa dan profil lemak pada keadaan Diabetes Melitus dengan:

1. periode waktu lebih lama
2. berbagai dosis dan berbagai waktu

7.2.2 Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efektifitas ekstrak biji jambang dalam meningkatkan aktifitas reseptor insulin dengan memeriksa kadar insulin dalam darah pada tikus yang dibuat menderita Diabetes Melitus

7.2.3 Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efektifitas ekstrak biji jambang pada kadar glikosilasi hemoglobin (HbA_{1C}).

DAFTAR PUSTAKA

- Arulmozhi DK, Veeranjanyulu A, Bodhankar SL, 2004. Neonatal streptozotocin-induced rat model of type 2 diabetes mellitus. *Indian J Pharmacol*, Vol 36, Issue 4, 217-221.
- Binggeli Pierre, 2006. *Syzygium cumini* (tree), Invasive Species Specialist Group.
- Brands SJ, 2006. *The taxonomicon universal taxonomic services*. Amsterdam, The Netherlands.
- Chattopadhyay RR, Bandyopadyay M, 2005. Effect of *Azadirachta indica* leaf extract on serum lipid profile changes in normal and streptozotocin induced diabetic rats. *African Journal of Biomedical Research*, Vol. 8, NUM. 2, pp. 101-104.
- Clark Charles M, Lee Anthony D, 1995. Prevention and treatment of the complications of diabetes mellitus. *The New England Journal of Medicine*, pp 1210-1216.
- Colman, Thomas, Zimmet, Welborn, Garcia-Webb, Moore, 1999. New classification and criteria for diagnosis of diabetes mellitus. *The Medical Journal of Australia*.
- Creager Mark A, Luscher Thomas F, Cosentino Francesco, Beckman Joshua A, 2003. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part 1. *Circulation Journal of The American Heart Association*, pp 1527-1530.
- DeFronzo Ralph A, 1999. Pharmacologic therapy for type 2 diabetes mellitus. *Annals of Internal Medicine*, Volume 131, Number 4, pp. 281-303.
- Dey Lucy, Anoja S, Attele, Yuan Chun-Su, 2002. Alternative therapies for type 2 diabetes, alternative medicine review. Volume 7, Number 1, pp 45-58.
- Germann WJ, Cindy LS, 2005. *Principles of human physiology*. Second Edition, Pearson Benjamin Cummings p. 300-350
- Ganong WF, 1999. *Buku ajar fisiologi kedokteran*. Edisi 17, EGC, Jakarta, hal 328-351, 458-467.
- Gomes Mariana R, Rogero Marcelo M, Tirapegui J, 2005. Considerations about chromium, insulin and physical exercise, *Original Article* vol. 11, p. 246-250.
- Hagerman Ann E, 2002. *Tannin chemistry*. Department of Chemistry and Biochemistry, Miami University, Oxford, USA, p. 10-15.

- Halvorson Glen A, 2001. Ellagic insurance formula. *Chemopreventiv Properties of Phytochemicals*, p. 1-33.
- Hanafiah KA, 2003. *Rancangan Percobaan, Teori & Aplikasi*. Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya, Palembang. Penerbit PT RajaGrafindo Persada Jakarta.
- Indrayan AK, Sudeep Sharma, Deepak Durgapal, Neeraj Kumar and Kumar Manoj, 2005. Determination of nutritive value and analysis of mineral elements for some medicinally valued from uttaranchal. *Current Science*, Vol. 89, No. 7.
- Intisari, 2006. Diabetes tumbang berkat jambang. No. 520, Tahun XLIII Nopember.
- IPTEKnet, 2005. *Teknologi budidaya tanaman pangan*. BPPT dan Ristek.
- Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD, Martin JB, Fauci A *et al.*, 2000. *Harrison Prinsip-prinsip ilmu penyakit dalam (Harrison's principles of internal medicine)*, Volume III. Edisi Bahasa Indonesia oleh: Asdic. Jakarta: EGC, hal. 2196-2201.
- Jakus V, 2000. The role of free radicals, oxidative stress and antioxidant systems in diabetic vascular disease. *Bratisl Lek Listy*, 101 (10): 541-551.
- Koolman J, Roehm K.H, 2005. *Color Atlas of Biochemistry*, 2nd edition, p. 162-172.
- Kusumawati Diah, 2004. *Bersahabat dengan hewan coba*, Gajah Mada university Press, hal. 8, 68, 82-90.
- Linder Maria C. 1992. *Biokimia nutrisi dan metabolisme dengan pemakaian secara klinis*. UI Press, Jakarta, hal 309-315.
- Liu Xueqing, Kim Jae-Kyung, Li Yusheng, Li Jing, Fang Liu, and Chen Xiaozhuo, 2004. Tannic acid stimulates glucosa transport and inhibits adipocyte differentiation in 3T 3-L cells. *The Journal of Nutrition*, p. 165-171.
- Marks Dawn B, Marks Allan D, Smith Colleen M, 2000. *Biokimia kedokteran dasar, sebuah pendekatan klinis*. Edisi Bahasa Indonesia oleh: Bram U. Pedit, Jakarta EGC, hal. 513-529.
- McGilvery Robert W, Goldstein Gerald W, 1996. *Biokimia suatu pendekatan fungsional*. Airlangga University Press, Jilid 2, hal. 20-30
- Murray Robert K, Granner Daryl K, Mayes Peter A, Rodwell Victor W, 2003. *Biokimia Harper*, Edisi 25, EGC, Jakarta, hal. 203-261

- Montgomery Rex, Robert L Dryer, Thomas W Conway, Arthur A Spector, 1993. Biokimia suatu pendekatan berorientasi kasus. Gajah Mada University Press, Edisi pertama, hal. 35-40
- Momo, Oben, Tazoo, Dongo, 2006. Antidiabetic and hypolipidemic effect of *laportea ovalifolia* (urticaceae) in alloxan induced diabetic rats. *Afr. J. Traditional CAM* 3 (1): 36 – 43.
- Morton J., and F.L. Miami, 1987. Jambolan., In: *Fruits of warm climates*, p. 375-378.
- Noomrio MH, Dahot Umar M, 1996. Nutritive eugenia jambosa fruit. *Journal of Islamic Academy of Sciences* 9:1, 9-12.
- Notkins Abner Louis, 2002. Immunologic and Genetic Factors in Type 1 Diabetes. *The Journal of Biological Chemistry*, Vol 277, N0. 46, Issue of November 15, p. 43545-43548
- Payne Craig, 2002. Complication of Diabetes. *Diabetes – Lecture 2, Health Sciences, Department of Podiatry*. p. 200.
- Pepato MT, Folgado VBB, Kettelhut IC, Brunetti, 2001. Lack of antidiabetic effect of eugenia jambolana leaf decoction on rat streptozotocin diabetes. *Journal of Medical and Biological Research* 34: 389-395.
- Ravi Kasi, Ramachandran Balasubramanian, Subramanian Sorimuthu, 2004. Protective effect of eugenia jambolana seed kernel on tissue antioxidants in streptozotocin-induced diabetic rats, *Biol. Pharm. Bull.* 27 (8) 1212-1217.
- Safdar Mahpara, Khan Alam, and Habibullah, 2006. Effect of jaman fruit extract on serum glucose and lipid profile in type 2 diabetic individuals, *Pakistan Journal of Nutrition* 5 (6): 573-576.
- Sagrawat H., Mann AS, and Kharya MD, 2006. PHCOG MAG: Review article pharmacological potential of eugenia jambolana, *A Review Pharmacological Magazine*, Vol 2, Issue 6, p. 96-105
- Santoso S, 2002. *Buku Latihan SPSS Statistik Multivariat*. Jakarta: Penerbit PT Elex Media Komputindo, Kelompok Gramedia. Hal. 34-38, 199-220.
- Siswono Hadi, 2005. Mekanisme kerja vitamin B2, asam galat dan somatotropin pada penghambatan proses penuaan dini. *Kajian Aktivitas Senyawa Gizi, Non Gizi dan Hormon Pertumbuhan Sebagai Bahan Penghambat Proses Penuaan Dini*, Seminar Nasional MIPA, FMIPA – Universitas Indonesia Depok, 24-26 Nopember.

- Sridhar SB, Sheetal UD, Pai MRSM, Shastri MS, 2005. Preclinical evaluation of the antidiabetic effect of eugenia jambolana seed powder in streptozotocin-diabetic rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 38: 463-468
- Srinivasan K., and Ramarao P., 2007. Animal models in type 2 diabetes research: An overview, *Indian Journal Med Res* 125, p 451-472.
- So WY, Ng MCY, Lee SC, Sanke T, Lee HK, Chan JCN, 2000. Genetics of Type 2 Diabetes Mellitus. *HKMJ* Vol 6, No 1, Maret: 69-76.
- Suparman, 2003. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam, Gaya Baru, Jakarta*, hal. 571.
- Szkudelski T, 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cell of the rat pancreas. *Minireview, Physiological Research*. 50: 536-546.
- Subroto, 2006. *Ramuan Herbal Untuk Diabetes Melitus. Penebar Swadaya*, hal.20-50
- Wang Zhong Q, Zhang Xian H, Russell James C, Hulver Matthew, Cefalu William T, 2005. Chromium Picolinate Enhances Skeletal Muscle Cellular Insulin Signaling In Vivo in Obese, Insulin-Resistant JCR:LA-cp Rats, *The Journal of Nutrition*, p. 415-420.
- Wild Sarah, Roglic Gojka, Green Anders, Sicree Richard, King Hilary, 2004, *Global prevalence of diabetes, Diabetes Care, Volume 27, Number 5*.
- World Health Organization (WHO), 2006. *Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia, Report of a WHO/IDF Consultation*.
- Yeh Gloria Y, Eisenberg David M, Kaptchuk Ted J, Phillips Russel S, 2003. Systematic review of herbs and dietary supplements for glycemic control in diabetes. *Diabetes Care, Volume 26: 1277-1277*.
- Zainudin M, 1995. *Metodologi Penelitian. Universitas Airlangga Surabaya*, hal. 38-57



KOMISI ETIK PENELITIAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
Animal Care and Use Committee (ACUC)

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARANCE"

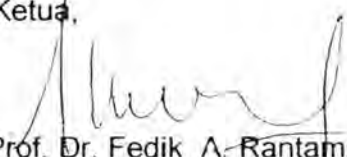
No : 026-KE

KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA,
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA :


- PENELITIAN BERJUDUL** : Pengaruh Ekstrak Biji Jambalang (*Eugenia jambolana*) Terhadap Kadar Glukosa Plasma, Kolesterol Total, Trigliserida, Kolesterol LDL, Kolesterol HDL Pada Tikus Putih Jantan Yang Diinduksi Streptozotosin
- PENELITI UTAMA** : Anita Joeliantina, S.Kep. Ns
- UNIT/LEMBAGA/TEMPAT PENELITIAN** : Program Magister (S2) Pascasarjana Universitas Airlangga
- DINYATAKAN** : LAIK ETIK

Surabaya, 3 Oktober 2007

Ketua,


Prof. Dr. Fedik A. Rantam, drh.
NIP. 131 653 434

Mengetahui,
Dekan FKH-Unair,


Prof. Romziah Sidik, Ph.D., drh.
NIP. 130 687 305

Lampiran 2: Tabulasi Data

DATA AWAL

Kelompok	BB awal (gram)	BB akhir (gram)	Perubahan BB (gram)	Glukosa (mg/dl)	Kolesterol total (mg/dl)	Trigliserida (mg/dl)	Kolesterol LDL (mg/dl)	Kolesterol HDL (mg/dl)
K. normal 1	119	123	4	126	57	65	20	31
K. normal 2	112	118	6	137	75	119	15	41
K. normal 3	123	123	0	154	61	53	16	38
K. normal 4	113	117	4	138	76	124	21	40
K. injeksi STZ 1	147	139	-6	513	54	82	13	35
K. injeksi STZ 2	146	143	-3	577	62	71	23	33
K. injeksi STZ 3	124	120	-4	477	67	107	22	38
K. injeksi STZ 4	150	146	-4	516	53	112	18	31

HASIL PENELITIAN

Kelompok	BB awal (gram)	BB akhir (gram)	Perubahan BB (gram)	Gklukosa (mg/dl)	Kolesterol total (mg/dl)	Trigliserida (mg/dl)	Kolesterol LDL (mg/dl)	Kolesterol HDL (mg/dl)
K. kontrol 1	127	123	-4	337	67	57	16	30
K. kontrol 2	140	134	-6	422	57	45	10	39
K. kontrol 3	142	130	-12	374	55	47	11	43
K. kontrol 4	126	117	-9	274	59	94	11	38
K. ekstrak 250 1	135	143	8	337	56	70	11	41
K. ekstrak 250 2	133	145	12	347	48	64	10	32
K. ekstrak 250 3	128	135	7	241	61	37	13	43
K. ekstrak 250 4	119	128	9	278	63	63	12	47
K. ekstrak 500 1	123	128	5	275	56	30	10	40
K. ekstrak 500 2	134	142	8	113	66	49	13	47
K. ekstrak 500 3	133	148	15	223	62	83	12	45
K. ekstrak 500 4	122	150	28	147	59	72	11	43
K. ekstrak 1000 1	126	131	5	257	55	41	12	42
K. ekstrak 1000 2	134	147	13	110	57	29	10	41
K. ekstrak 1000 3	141	150	9	153	52	75	10	45
K. ekstrak 1000 4	138	145	7	116	52	52	14	49

Lampiran 3: Data awal sebelum perlakuan**HASIL ANALISIS DESKRIPTIF BARAT BADAN****Deskriptif = Berat badan K 1****Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
berat badan awal	4	112.00	123.00	116.7500	5.18813
berat badan akhir	4	117.00	123.00	120.2500	3.20156
Valid N (listwise)	4				

Deskriptif = Berat badan K 2**Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
berat badan awal	4	124.00	150.00	141.7500	11.95478
berat badan akhir	4	120.00	146.00	137.0000	11.69045
Valid N (listwise)	4				

Deskriptif = Perubahan berat badan K 1**Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
prubahan berat badan	4	.00	6.00	3.5000	2.51661
Valid N (listwise)	4				

Deskriptif = Perubahan berat badan K 2**Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
prubahan berat badan	4	-8.00	-3.00	-4.7500	2.21736
Valid N (listwise)	4				

HASIL UJI NORMALITAS BERAT BADAN**NPar Tests = Berat Badan Kelompok 1 dan 2****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		berat badan awal	berat badan akhir
N		8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	129.2500	128.6250
	Std. Deviation	15.85425	11.96349
Most Extreme Differences	Absolute	.255	.306
	Positive	.255	.306
	Negative	-.230	-.182
Kolmogorov-Smirnov Z		.720	.865
Asymp. Sig. (2-tailed)		.677	.443

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

NPar Tests = Perubahan Berat Badan Kelompok 1 dan 2**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		perubahan berat badan
N		8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	-.6250
	Std. Deviation	4.92624
Most Extreme Differences	Absolute	.201
	Positive	.185
	Negative	-.201
Kolmogorov-Smirnov Z		.569
Asymp. Sig. (2-tailed)		.903

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

HASIL UJI BEDA PERUBAHAN BERAT BADAN AWAL**T-Test****Group Statistics**

	kelompok tikus	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
prubahan berat badan	normal	4	3.5000	2.5166	1.2583
	diabet	4	-4.7500	2.2174	1.1087

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
prubahan berat badan	Equal variances assumed	.017	.900	4.919	6	.003	8.2500	1.6771	4.1464	12.3536
	Equal variances not assumed			4.919	5.906	.003	8.2500	1.6771	4.1306	12.3694

HASIL ANALISIS DESKRIPTIF VARIABEL TERGANTUNG**Deskriptif = Kelompok normal (K 1)****Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Glukosa	4	126	154	138.75	11.529
Kolesterol	4	57	76	67.25	9.674
LDL	4	15	21	18.00	2.944
HDL	4	31	41	37.50	4.509
Triasilgliserol	4	53	124	90.25	36.473
Valid N (listwise)	4				

Deskriptif = Kelompok diabetes (K 2)**Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Glukosa	4	477	577	520.75	41.476
Kolesterol	4	53	67	59.00	6.683
LDL	4	13	23	19.00	4.546
HDL	4	31	38	34.25	2.986
Triasilgliserol	4	71	112	93.00	19.681
Valid N (listwise)	4				

UJI NORMALITAS DATA VARIABEL TERGANTUNG**NPar Tests = Kelompok 1 dan 2****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Glukosa	Kolesterol	LDL	HDL	Triasilgliserol
N		8	8	8	8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	329.75	63.13	18.50	35.88	91.63
	Std. Deviation	206.123	8.871	3.586	3.944	27.171
Most Extreme Differences	Absolute	.303	.175	.162	.205	.214
	Positive	.303	.175	.132	.142	.151
	Negative	-.263	-.160	-.162	-.205	-.214
Kolmogorov-Smirnov Z		.857	.496	.459	.580	.606
Asymp. Sig. (2-tailed)		.454	.966	.985	.890	.856

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

HASIL UJI BEDA Variabel Tergantung dengan T-test Dua Sampel Bebas Satu Ekor

T-Test

Group Statistics

	Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Glukosa	Kontrol negatif	4	138.75	11.529	5.764
	kontrol positif	4	520.75	41.476	20.738
Kolesterol	Kontrol negatif	4	67.25	9.674	4.837
	kontrol positif	4	59.00	6.683	3.342
LDL	Kontrol negatif	4	18.00	2.944	1.472
	kontrol positif	4	19.00	4.546	2.273
HDL	Kontrol negatif	4	37.50	4.509	2.255
	kontrol positif	4	34.25	2.986	1.493
Triasilgliserol	Kontrol negatif	4	90.25	36.473	18.236
	kontrol positif	4	93.00	19.681	9.840

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Glukosa	Equal variances assumed	2.332	.178	-17.747	6	.000	-382.00	21.524	-434.668	-329.332
	Equal variances not assumed			-17.747	3.461	.000	-382.00	21.524	-445.618	-318.382
Kolesterol	Equal variances assumed	4.221	.086	1.403	6	.210	8.25	5.879	-6.135	22.635
	Equal variances not assumed			1.403	5.332	.216	8.25	5.879	-6.583	23.083
LDL	Equal variances assumed	.857	.390	-.369	6	.725	-1.00	2.708	-7.626	5.626
	Equal variances not assumed			-.369	5.140	.727	-1.00	2.708	-7.905	5.905
HDL	Equal variances assumed	.475	.516	1.202	6	.275	3.25	2.704	-3.367	9.867
	Equal variances not assumed			1.202	5.207	.281	3.25	2.704	-3.619	10.119
Triasilgliserol	Equal variances assumed	16.576	.007	-.133	6	.899	-2.75	20.722	-53.455	47.955
	Equal variances not assumed			-.133	4.610	.900	-2.75	20.722	-57.400	51.900

Lampiran 4: Data setelah perlakuan**HASIL ANALISIS DESKRIPTIF BERAT BADAN****Deskriptif = Berat badan kelompok kontrol positif (K 3)****Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
berat badan awal	4	126.00	142.00	133.7500	8.42120
berat badan akhir	4	117.00	134.00	126.0000	7.52773
Valid N (listwise)	4				

Deskriptif = Berat badan kelompok ekstrak 250 mg (K 4)**Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
berat badan awal	4	119.00	135.00	128.7500	7.13559
berat badan akhir	4	128.00	145.00	137.7500	7.80491
Valid N (listwise)	4				

Deskriptif = Berat badan kelompok ekstrak 500 mg (K 5)**Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
berat badan awal	4	122.00	134.00	128.0000	6.37704
berat badan akhir	4	128.00	150.00	142.0000	9.93311
Valid N (listwise)	4				

Deskriptif = Berat badan kelompok ekstrak 1000 mg (K 6)**Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
berat badan awal	4	126.00	141.00	134.7500	6.50000
berat badan akhir	4	131.00	150.00	143.2500	8.42120
Valid N (listwise)	4				

Deskriptif = Perubahan berat badan kelompok kontrol positif (K 3)**Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
kelompok tikus	4	1.00	1.00	1.0000	.00000
prubahan berat badan	4	-12.00	-4.00	-7.7500	3.50000
Valid N (listwise)	4				

Deskriptif = Perubahan berat badan kelompok ekstrak 250 mg (K 4)**Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
prubahan berat badan	4	7.00	12.00	9.0000	2.16025
Valid N (listwise)	4				

Deskriptif = Perubahan berat badan kelompok ekstrak 500 mg (K 5)**Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
prubahan berat badan	4	5.00	28.00	14.0000	10.23067
Valid N (listwise)	4				

Deskriptif = Berat badan kelompok ekstrak 1000 mg (K 6)**Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
prubahan berat badan	4	5.00	13.00	8.5000	3.41565
Valid N (listwise)	4				

UJI NORMALITAS DATA BERAT BADAN

NPar Tests = Berat badan Kelompok 3, 4, 5, 6

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		berat badan awal	berat badan akhir
N		16	16
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	131.3125	137.2500
	Std. Deviation	7.09665	10.33763
Most Extreme Differences	Absolute	.156	.177
	Positive	.117	.109
	Negative	-.156	-.177
Kolmogorov-Smirnov Z		.626	.708
Asymp. Sig. (2-tailed)		.828	.697

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

NPar Tests = Perubahan berat badan Kelompok 3, 4, 5, 6

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		perubahan berat badan
N		16
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	5.9375
	Std. Deviation	9.90938
Most Extreme Differences	Absolute	.212
	Positive	.129
	Negative	-.212
Kolmogorov-Smirnov Z		.849
Asymp. Sig. (2-tailed)		.466

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

ANALYSIS of VARIANCE PERUBAHAN BERAT BADAN

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

prubahan berat badan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.120	3	12	.066

ANOVA

prubahan berat badan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1073.188	3	357.729	10.739	.001
Within Groups	399.750	12	33.313		
Total	1472.938	15			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: perubahan berat badan

LSD

(I) kelompok tikus	(J) kelompok tikus	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
positif	250	-16.7500*	4.08121	.001	-25.6422	-7.8578
	500	-21.7500*	4.08121	.000	-30.6422	-12.8578
	1000	-16.2500*	4.08121	.002	-25.1422	-7.3578
250	positif	16.7500*	4.08121	.001	7.8578	25.6422
	500	-5.0000	4.08121	.244	-13.8922	3.8922
	1000	.5000	4.08121	.905	-8.3922	9.3922
500	positif	21.7500*	4.08121	.000	12.8578	30.6422
	250	5.0000	4.08121	.244	-3.8922	13.8922
	1000	5.5000	4.08121	.203	-3.3922	14.3922
1000	positif	16.2500*	4.08121	.002	7.3578	25.1422
	250	-.5000	4.08121	.905	-9.3922	8.3922
	500	-5.5000	4.08121	.203	-14.3922	3.3922

*. The mean difference is significant at the .05 level.

HASIL ANALISIS DESKRIPTIF VARIABEL TERGANTUNG**Deskriptif = Kelompok kontrol positif (K 3)****Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Glukosa	4	274	422	351.75	62.431
Kolesterol	4	55	67	59.50	5.260
LDL	4	10	16	12.00	2.708
HDL	4	30	43	37.50	5.447
Triasilgliserol	4	45	94	60.75	22.780
Valid N (listwise)	4				

Deskriptif = Kelompok ekstrak 250 mg (K 4)**Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Glukosa	4	241	347	300.75	50.136
Kolesterol	4	48	63	57.00	6.683
LDL	4	10	13	11.50	1.291
HDL	4	32	47	40.75	6.344
Triasilgliserol	4	37	70	58.50	14.663
Valid N (listwise)	4				

Deskriptif = Kelompok ekstrak 500 mg (K 5)**Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Glukosa	4	113	275	189.50	73.237
Kolesterol	4	56	66	60.75	4.272
LDL	4	10	13	11.50	1.291
HDL	4	40	47	43.75	2.986
Triasilgliserol	4	30	83	58.50	23.700
Valid N (listwise)	4				

Deskriptif = Kelompok 1000 mg (K 6)**Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Glukosa	4	110	257	159.00	68.044
Kolesterol	4	52	57	54.00	2.449
LDL	4	10	14	11.50	1.915
HDL	4	41	49	44.25	3.594
Triasilgliserol	4	29	75	49.25	19.568
Valid N (listwise)	4				

UJI NORMALITAS DATA VARIABEL TERGANTUNG

NPar Tests = Seluruh kelompok (K 3, 4, 5, 6)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Glukosa	Kolesterol	LDL	HDL	Triasilgliserol
N		16	16	16	16	16
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	250.25	57.81	11.63	41.56	56.75
	Std. Deviation	99.563	5.141	1.708	5.112	18.884
Most Extreme Differences	Absolute	.148	.125	.205	.144	.099
	Positive	.148	.125	.205	.094	.099
	Negative	-.121	-.105	-.171	-.144	-.071
Kolmogorov-Smirnov Z		.593	.501	.821	.575	.397
Asymp. Sig. (2-tailed)		.874	.963	.510	.896	.997

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

ANALYSIS of VARIANCE

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Glukosa	.282	3	12	.837
Kolesterol	.983	3	12	.433
HDL	.481	3	12	.702
LDL	1.100	3	12	.387
Triasilgliserol	.491	3	12	.695

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Glukosa	Between Groups	99478.500	3	33159.500	8.085	.003
	Within Groups	49214.500	12	4101.208		
	Total	148693.0	15			
Kolesterol	Between Groups	106.688	3	35.563	1.473	.271
	Within Groups	289.750	12	24.146		
	Total	396.438	15			
HDL	Between Groups	116.688	3	38.896	1.696	.221
	Within Groups	275.250	12	22.938		
	Total	391.938	15			
LDL	Between Groups	.750	3	.250	.070	.975
	Within Groups	43.000	12	3.583		
	Total	43.750	15			
Triasilgliserol	Between Groups	313.500	3	104.500	.249	.860
	Within Groups	5035.500	12	419.625		
	Total	5349.000	15			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Glukosa	kontrol positif + aqua	Ekstrak 250 mg	51.00	45.284	.282	-47.66	149.66
		Ekstrak 500 mg	162.25*	45.284	.004	63.59	260.91
		Ekstrak 1000 mg	192.75*	45.284	.001	94.09	291.41
	Ekstrak 250 mg	kontrol positif + aqua	-51.00	45.284	.282	-149.66	47.66
		Ekstrak 500 mg	111.25*	45.284	.030	12.59	209.91
		Ekstrak 1000 mg	141.75*	45.284	.009	43.09	240.41
	Ekstrak 500 mg	kontrol positif + aqua	-162.25*	45.284	.004	-260.91	-63.59
		Ekstrak 250 mg	-111.25*	45.284	.030	-209.91	-12.59
		Ekstrak 1000 mg	30.50	45.284	.513	-68.16	129.16
	Ekstrak 1000 mg	kontrol positif + aqua	-192.75*	45.284	.001	-291.41	-94.09
		Ekstrak 250 mg	-141.75*	45.284	.009	-240.41	-43.09
		Ekstrak 500 mg	-30.50	45.284	.513	-129.16	68.16

701 882 6 x 13 ml
701 904 15 x 32 ml

- Peridochrom® TRIGLYCERIDES GPO - PAP

MPR 2 701 912 5 x 100 ml

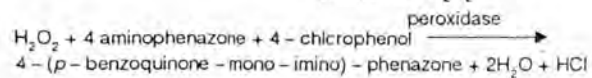
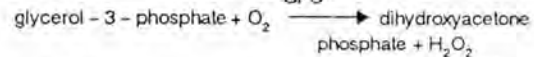
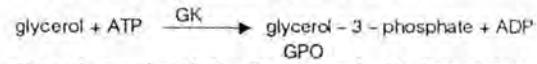
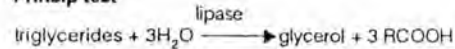
- TRIGLYCERIDES GPO - PAP

Hidrolisa enzimatis triglycerides diikuti pelepasan glycerol secara kolorimetri.

Referensi :

Mod. according to Wahlefeld, A. W. (1974).
Triglycerides. Determination after Enzymatic Hydrolysis, Page 183 ff. in H. U. Bergmeyer, ed. *Methods of Enzymatic Analysis*, 2nd English ed. (Transl. from 3rd German ed.). Verlag Chemie Weinheim and Academic Press, Inc., New York and London, 4 vols.
Nägels, U. (Boehringer Mannheim GmbH), personal communication.
Trinder, P. (1969). *Ann. Clin Biochem.* 6 : 24.

Prinsip test



Materi sampel

Serum, plasma heparin atau plasma EDTA
Stabilitas : 3 hari pada +4 °C
4 bulan pada -20 °C

Interpretasi klinis sesuai rekomendasi European Atherosclerosis Society :

		gangguan lipid
Cholesterol	< 200 mg/dl	tidak
Triglycerides	< 200 mg/dl	
Cholesterol	200 - 300 mg/dl	ya jika HDL kolesterol < 35 mg/dl
Cholesterol	> 300 mg/dl	ya
Triglycerides	> 200 mg/dl	
Cholesterol		Triglycerides
35 mg/dl $\hat{=}$ 0.9 mmol/l		200 mg/dl $\hat{=}$ 2.3 mmol/l
200 mg/dl $\hat{=}$ 5.2 mmol/l		
300 mg/dl $\hat{=}$ 7.8 mmol/l		

Referensi : Study Group, European Atherosclerosis Society
Strategies for the prevention of coronary heart disease :
A policy statement of the European Atherosclerosis Society. (1987).
Eur. Heart J. 8 : 77

	6 x 13 ml	15 x 32 ml	5 x 100 ml
Buffer			
Botol 1a Strip reagen	6 strip	15 strip	
Botol 1a Enzymes/ 4-aminophenazone			5 x 100 ml (lyophilisate)
Hubungkan satu botol 1 ke satu botol 1a dengan adapter yang tersedia dalam kit. Larutkan lyophilisate dengan sempurna dan bilas beberapa kali. Untuk seri pemeriksaan yang besar, larutan reagen dari beberapa botol dapat dicampur menjadi satu.			
Stabil selama 2 minggu pada +2 - 8 °C 2 hari pada +15 - 25 °C			

Prosedur

Panjang gelombang Hg 546 nm
Spectrophotometer 500 nm
Kuvet diameter dalam 1 cm
Suhu inkubasi 20 - 25 °C atau 37 °C

Jika pengukuran akan dilakukan terhadap standard, diperlukan Precimat Glycerol (Cat. No. 166 588)

Pengukuran terhadap larutan reagen. Satu cukup untuk setiap seri pemeriksaan (kenaikan absorbans).

Pipet ke dalam tabung :	
serum atau plasma	0.02 ml
larutan reagen	2.00 ml
Campur dan inkubasikan selama 10 menit pada 20 - 25 °C. Baca absorbans sampel terhadap larutan reagen dalam waktu 60 menit = A_{sampel}	

Untuk inkubasi pada 37 °C (10 menit), maka A_{standard} harus ditentukan, satu cukup untuk setiap seri pemeriksaan dengan memakai Precimat® Glycerol, yang diperlakukan seperti serum atau plasma. Baca absorbans A_{sampel} atau A_{standard} dalam waktu 30 menit.

Batas pengenceran

1000 mg/dl (11,4 mmol/l)

Kalkulasi dengan faktor

Kalkulasikan konsentrasi (c) triglyceride sebagai berikut :

Suhu inkubasi : 20 - 25 °C		
panjang gelombang	c (mg/dl)	c (mmol/l)
Hg 546 nm	$1040 \times A_{\text{sampel}}$	$11.9 \times A_{\text{sampel}}$
500 nm	$760 \times A_{\text{sampel}}$	$8.66 \times A_{\text{sampel}}$

Kalkulasi melalui standard

Kalkulasikan konsentrasi (c) triglyceride sebagai berikut :

Suhu inkubasi : 20 - 25 °C atau 37 °C	
c (mg/dl)	$\frac{A_{\text{sampel}}}{A_{\text{standard}}} \times \text{faktor}$

Konsentrasi larutan reagen

ATP \geq 0.5 mmol/l ; 4-aminophenazone : 0.35 mmol/l ; lipase \geq 3 U/ml ; glycerol phosphate oxidase \geq 2.5 U/ml ; glycerol kinase \geq 0.2 U/ml ; peroxidase \geq 0.15 U/ml ; 4-chlorophenol ; 3.5 mmol.

Pemantapan kualitas

Akurasi : Precinorm® U, Precipath® U
Precinorm® L, Precipath® L
Presisi : Precinorm® UPX

Catatan

Untuk mengoreksi nilai free glycerol kurangkan 10 mg/dl (0.11 mmol/l) dari nilai triglyceride yang dikalkulasikan. Bila dikerjakan dengan serum kontrol gunakan nilai yang ditentukan oleh manufaktur.

Untuk pengukuran semi-mikro, gunakan 0.01 ml serum atau plasma dan 1.00 ml larutan reagen. Keadaan lainnya termasuk faktor kalkulasi tetap sama.

Stabil selama 4 minggu pada + 20 sampai 25 °C

Reagen cholesterol

Lihat lampiran kit Cholesterol MPR 1, MPR 2 atau MPR 3, metoda CHOD - PAP

Persiapan sampel

Presipitasi

Pipet ke dalam tabung sentrifugal	
sampel	200 μ l
Presipitan	100 μ l
Campur, dan biarkan selama 15 menit pada suhu kamar Kemudian sentrifugasikan selama 2 menit pada 10000 g atau selama 15 menit pada 1500 g	

Setelah sentrifugasi, pisahkan supernatan dari sedimen dan tentukan kadar kolesterol dengan metoda CHOD - PAP

Prosedur

Penentuan kadar kolesterol dengan kit Cholesterol metoda CHOD - PAP, MPR 1, MPR 2 atau MPR 3.

Panjang gelombang : Hg 546 nm
Spectrophotometer : 500 nm
Kuvet : diameter dalam 1 cm
Suhu inkubasi : 20 - 25 °C atau 37 °C
Pengukuran terhadap blanko reagen (BR)
Satu blanko reagen cukup untuk setiap seri pemeriksaan.

Pipet ke dalam tabung :	BR	Sampel
aqua bidest	50 μ l	-
supernatan	-	50 μ l
larutan reagen	2000 μ l	2000 μ l
Campur, kemudian inkubasi BR dan sampel selama 10 menit pada 20 - 25 °C atau selama 5 menit pada 37 °C. Ukur absorbans sampel (A_{sampel}) terhadap BR dalam waktu 1 jam		

023011

Hg 546 nm	$519.4 \times A_{\text{sampel}}$	$13.46 \times A_{\text{sampel}}$
500 nm	$350.1 \times A_{\text{sampel}}$	$9.07 \times A_{\text{sampel}}$

$LDL \text{ kolesterol} = \text{total kolesterol} - \text{cholesterol dalam supernatan}$

Catatan

Nilai LDL kolesterol yang didapatkan, dengan metoda PVS sejalan dengan nilai LDL - kolesterol yang didapatkan dari kalkulasi dengan formula Friedewald yang memperhitungkan keterbatasannya ($r = 0.98$; $n = 30$). Bila dihubungkan dengan prosedur ultrasentrifugasi (modifikasi dari National Institute of Health) adalah sebagai berikut : $r = 0.90$; $n = 23$.

Supernatan dan endapannya dapat juga digunakan untuk penentuan lipid lainnya dan protein.

Presipitasi sempurna tidak dapat dihasilkan jika kadar triglyceride melebihi 400 mg/dl.

LDL Cholesterol (metoda PVS)

Isi kit

1 Polyvinyl sulphate (PVS) (4 x 5.25 ml)

1a Accelerator (1 x 4.9 ml)

Reagen pelengkap untuk digunakan dengan Cholesterol metoda CHOD - PAP MPR 1, MPR 2 atau MPR 3.

Metoda

Presipitasi polyvinyl sulphate

Prinsip test

LDL diendapkan dengan penambahan polyvinyl sulphate pada sampel. Konsentrasi LDL dikalkulasikan dari pengurangan antara kolesterol total dalam serum dengan kolesterol dalam supernatan setelah sentrifugasi.

Interprestasi klinis

LDL kolesterol	
< 150 mg/dl (3.88 mmol/l)	Tidak perlu perawatan
150 - 190 mg/dl (3.88 - 4.91 mmol/l)	Kebutuhan perawatan ditentukan oleh keseluruhan gambaran klinis
> 190 mg/dl (4.91 mmol/l)	Memerlukan perawatan

Referensi :

Assmann, G. (1979). *Lipiddiagnostik heute*, Page 29ff, in Greten, H., et al. *Lipoproteine und Herzinfarkt* Witzstrock-Verlag, Baden - Baden/Germany.

Materi sampel

Serum segar

Stabil selama 24 jam pada + 4 sampai 8 °C

Pemantapan kualitas

Untuk kontrol akurasi : Precinorm[®] L, Precipath[®] L

MPR 1	1 442 341	10 x 32 ml
MPR 2	1 442 350	10 x 100 ml
MPR 3	236 691	4 x 500 ml

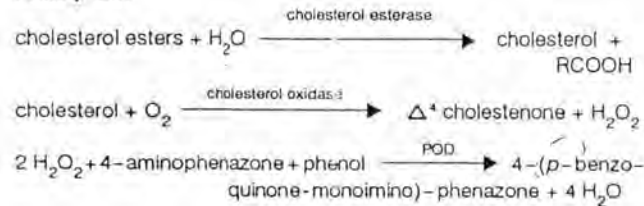
Cholesterol

Metoda CHOD-PAP

Metoda

Siedel, J., et al. (1983). *Clin. Chem* **29** : 1075.
 Kattermann, R., et al. (1984). *Clin. Chem. Clin. Biochem.* **22** : 245.
 Trinder, P. (1969). *Ann. clin. Biochem* **6** : 24.

Prinsip test



Interpretasi klinik sesuai rekomendasi European Atherosclerosis Society¹

		Gangguan Lipid
Cholesterol	< 200 mg/dl	tidak
Triglycerides	< 200 mg/dl	
Cholesterol	200-300 mg/dl	ya, jika HDL kolesterol < 35 mg/dl
Cholesterol	> 300 mg/dl	ya
Triglycerides	> 200 mg/dl	

Nilai dalam mmol/l :

Cholesterol :	35 mg/dl = 0.9 mmol/l
	200 mg/dl = 5.2 mmol/l
	300 mg/dl = 7.8 mmol/l
Triglycerides :	200 mg/dl = 2.3 mmol/l

Materi sampel

Serum, plasma heparin atau plasma EDTA
 Stabil selama 6 hari pada + 4 sampai 25 °C
 4 bulan pada - 20 °C

Botol 1	10	10	4
Reagen			
Cholesterol			

IR PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

MPR 1	: Larutkan isi satu botol 1 dengan mengisi aqua bidest sampai mencapai batas (kira-kira 32 ml).
MPR 2	: Larutkan isi satu botol 1 dengan menambahkan 100 ml aqua bidest.
MPR 3	: Larutkan isi satu botol 1 dengan menambahkan 500 ml aqua bidest.
Larutan reagen siap dipakai sesudah 10 menit.	
Stabil selama 4 minggu pada + 2 sampai 8 °C 7 hari pada + 2 sampai 25 °C	

Prosedur

Panjang gelombang : Hg 546 nm (470 - 560 nm)
 Spectrophotometer : 500 nm
 Kuvet : diameter dalam 1 cm
 Suhu inkubasi : 20 - 25 °C atau 37 °C
 Pengukuran terhadap blanko reagen (BR).
 Satu blanko reagen cukup untuk setiap seri pemeriksaan.

Pipetkan ke dalam tabung :		
	BR	Sampel
sampel	-	0,02 ml
larutan reagen	2,00 ml	2,00 ml
Campur dan inkubasi selama 10 menit pada 20 - 25 °C atau 5 menit pada 37 °C. Baca absorbans sampel terhadap BR dalam waktu 1 jam = Δ A sampel		

Kalkulasi

Konsentrasi (c) kolesterol dalam sampel :

Panjang gelombang	mg/dl	mmol/l
Hg 546 nm	c = 853 x A _{sampel}	c = 22.1 x A _{sampel}
500 nm	c = 575 x A _{sampel}	c = 14.9 x A _{sampel}

Batas pengenceran:

1000 mg/dl (25.9 mmol/l)
 Pada konsentrasi kolesterol yang lebih tinggi, encerkan 0.1 ml sampel dengan 0.2 ml larutan NaCl 0.9% dan ulangi pemeriksaan (hasil x 3).

Konsentrasi dalam tes

Tris buffer : 100 mmol/l ; pH 7.7 ; Mg²⁺ : 50 mmol/l ;
 4-aminophenazone : 1 mmol/l ; sodium cholate : 10 mmol/l ;
 phenol : 6 mmol/l ; 3,4-dichlorophenol : 4 mmol/l ; fatty alcohol polyglycol ether : 0.6 % ;
 kolesterol esterase ≥ 0.4 U/ml ;
 kolesterol oxidase ≥ 0.25 U/ml ; peroxidase ≥ 0.2 U/ml

Pemantapan Kualitas :

Akurasi : Precinorm* U, Precipath* U
 Precinorm* L, Precipath* L
 Presisi : Precinorm* UPX

Catatan

Jika didapati kesulitan pada pemantapan kualitas yang menunjukkan keterbatasan linearitas pada photometer, atau jika pengukuran tidak dapat dilakukan pada Hg 546 nm atau 500 nm, harus dibuat kurva kalibrasi dengan menggunakan Precisel* Cholesterol (cat. no. 125 512). Nilai kolesterol dibaca dari kurva tersebut.
 Konsentrasi bilirubin diatas 4 mg/dl mengganggu pemeriksaan (hasil kerendahan sampai 10 %).
 Hemoglobin dengan konsentrasi sampai 200 mg/dl tidak mengganggu pemeriksaan.

Referensi

1 Study Group, European Atherosclerosis Society.
 Strategies for the prevention of coronary heart disease: A policy statement of the European Atherosclerosis Society. (1987).
Eur. Heart J. **8** : 77.